

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"**

**SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA**



Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia

**DOTTORATO DI RICERCA IN TERAPIE AVANZATE BIOMEDICHE E  
CHIRURGICHE**

Direttore: Prof. Giovanni Di Minno

**TESI DI DOTTORATO**

**"PROBLEMATICHE NUTRIZIONALI NEL DIABETE MELLITO TIPO 1:  
ABITUDINI ALIMENTARI E MODULAZIONE DELLA RISPOSTA  
GLICEMICA POSTPRANDIALE"**

**RELATORE**

Ch.ma Prof.ssa

Olga Vaccaro

**CANDIDATO**

Dott.ssa Marisa Giorgini

**ANNO ACCADEMICO 2016/2017**

## **Indice**

1. Introduzione	pag. 3
2. Valutazione delle abitudini alimentari nel diabete mellito tipo 1	pag. 7
3. Modulazione della risposta glicemica postprandiale	pag. 8
3.1 Il ruolo dei carboidrati: dalla qualità all'indice glicemico e al carico Glicemico	pag. 8 pag. 11
3.2 Il ruolo dei grassi	pag. 11
4. Scopo e linee di ricerca	pag. 13
5. Protocolli sperimentali	pag. 14
5.1 Intake di micronutrienti in una coorte di italiani adulti con diabete mellito tipo 1: adesione alle raccomandazioni nutrizionali	pag. 14
5.2 Il carico glicemico vs. il conteggio dei carboidrati per il calcolo del bolo prandiale in pazienti con diabete mellito tipo 1 in trattamento con microinfusore di insulina	pag. 23
5.2.1 Un percorso formativo per l'utilizzo del carico glicemico per la determinazione del bolo prandiale di insulina nei pazienti con diabete mellito tipo 1	pag. 35
5.3 L'olio extra vergine di oliva riduce la risposta glicemica a pasti ad alto indice glicemico in soggetti con diabete tipo 1	pag. 46
5.3.1 Meccanismi gastrointestinali alla base dell'effetto dell'olio extra vergine di oliva sulla riduzione della glicemia postprandiale in soggetti con diabete mellito tipo 1	pag. 61
6. Considerazioni conclusive	pag. 79
7. Appendice	pag. 81
8. Bibliografia	pag. 83
9. Pubblicazioni	pag. 94

## **1. Introduzione**

Il diabete mellito tipo 1 (DM1) è una patologia cronica autoimmune che richiede, a vita, la somministrazione di insulina esogena per la sopravvivenza. Oltre la terapia insulinica, la dieta rappresenta l'altra componente essenziale per la gestione quotidiana della patologia. Una adeguata terapia nutrizionale è considerata fondamentale sia nel controllo della glicemia che delle altre alterazioni metaboliche spesso associate alla malattia diabetica, quali ipercolesterolemia, ipertrigliceridemia e iperuricemia, così come nella prevenzione delle complicanze croniche della malattia diabetica [1].

Inoltre, la terapia nutrizionale deve contenere tutti i nutrienti e gli altri componenti della dieta in quantità adeguate in modo da migliorare lo stato di salute sia fisico che mentale e deve essere adattabile con facilità alle abitudini di vita del paziente ma anche alle preferenze personali e culturali. Non è più possibile, pertanto, pensare di poter prescrivere una dieta rigidamente pianificata; l'intervento nutrizionale viene infatti a collocarsi all'interno di un più ampio e complesso intervento sullo stile di vita in cui il termine "dieta" viene sostituito con quello di "terapia medica nutrizionale" che meglio indica il potenziale terapeutico dell'alimentazione [2].

Considerando l'importanza della terapia nutrizionale nella gestione del diabete, le principali società scientifiche [3,4] hanno redatto precise raccomandazioni nutrizionali per il soggetto con diabete mellito. In linea di massima tali raccomandazioni sono uguali per il diabete mellito tipo 2 e tipo 1, anche se è indubbio che per quest'ultimo è necessario sottolineare alcuni punti più di altri.

### *Apporto di lipidi*

Il paziente con diabete, anche quello con diabete tipo 1, presenta un rischio cardiovascolare aumentato rispetto alla popolazione non diabetica. Pertanto, l'elemento più importante della terapia nutrizionale è rappresentato dai grassi. In particolare, è necessario limitare l'apporto di acidi grassi saturi e trans a meno del 10% delle calorie totali ed un'ulteriore riduzione si raccomanda per i pazienti che presentano elevati valori di colesterolo LDL (<8%). Per quanto riguarda la quota di lipidi totali, le raccomandazioni prevedono una quota che può

raggiungere anche il 35% dell'introito energetico giornaliero. L'aumento dei grassi totali può essere ottenuto incrementando la quota di acidi grassi insaturi, in particolare, quella dei monoinsaturi (10-20% delle calorie totali). L'apporto degli acidi grassi polinsaturi deve mantenersi entro il 10% delle calorie totali. Relativamente all'apporto di colesterolo, è opportuno un consumo limitato (<300 mg al giorno) e deve essere ulteriormente ridotto al di sotto di 200 mg al giorno, se i livelli plasmatici di colesterolo LDL sono elevati)[4]. (tabella 1).

#### *Apporto di carboidrati e fibre*

Una dieta ricca in carboidrati (CHO) a basso indice glicemico (IG) e fibre vegetali si è dimostrata la più efficace nel controllo della glicemia, dei livelli plasmatici del colesterolo e degli altri fattori di rischio cardiovascolare. Dal punto di vista nutrizionale i CHO sono distinti in CHO digeribili (amido, zuccheri etc.) e non digeribili (fibre vegetali, inulina etc.) perchè non digeriti dagli enzimi intestinali dell'uomo. Tuttavia, anche quelli non digeribili come le fibre vegetali, in particolare quelle solubili, esercitano effetti metabolici positivi perchè grazie alla loro viscosità e alla struttura fisica che conferiscono all'alimento in cui sono contenute, rallentano la digestione dell'amido e l'assorbimento degli zuccheri con un minore incremento della glicemia postprandiale e un minor rischio di ipoglicemia a distanza dal pasto, particolarmente importante nel tipo 1 [5]. Le fibre vegetali solubili, inoltre, riducono i livelli di colesterolo LDL grazie alla loro capacità di legare gli acidi biliari. Un altro effetto benefico delle fibre è quello di stimolare la crescita della flora batterica colica (effetto prebiotico) che è in grado di fermentare le fibre con la produzione di acidi grassi a corta catena (acido acetico, propionico e butirrico). L'acido acetico e propionico sono in grado di modulare la neoglucogenesi e la lipogenesi a livello epatico, mentre l'acido butirrico potrebbe prevenire la carcinogenesi intestinale. L'apporto di fibre alimentari raccomandato è di circa 20 g/1000 kcal/giorno (tabella 1).

Oltre alle fibre, altri fattori possono influenzare la risposta glicemica in vivo ai carboidrati, che può essere molto diversa a seconda dell'alimento considerato e tale differenza viene indicata con l'Indice Glicemico (IG) dell'alimento. L'IG di un alimento contenente



carboidrati indica, infatti, l'incremento della glicemia rispetto al tempo e si esprime come rapporto percentuale tra la risposta glicemica di un determinato alimento e la risposta glicemica di un alimento di riferimento (pane o glucosio posto uguale a 100) a parità di carboidrati contenuti [2]. Gli alimenti contenenti carboidrati, possono essere classificati in base al loro effetto sulla risposta glicemica in alimenti a basso (<55 IG) o ad alto indice glicemico (>75 IG) . L'IG può essere pertanto considerato un utile parametro per la scelta degli alimenti da consumare in caso di diabete e vanno preferiti gli alimenti a basso IG (Livello di prova III, Forza della raccomandazione B) [4].

#### *Apporto di proteine*

La quota proteica consigliata per i pazienti con diabete mellito sia tipo 1 che tipo 2, è uguale a quella della popolazione generale. In presenza di segni, anche iniziali, di nefropatia (microalbuminuria tra 30 e 300 mg/al giorno) è consigliabile una dieta con un contenuto di proteine pari a 0.8-1.0 g/kg peso corporeo desiderabile/al giorno (Tabella 1).

#### *Alcol*

Al paziente diabetico normopeso è consentito un consumo moderato di bevande alcoliche a bassa gradazione durante i pasti, pari ad un introito inferiore a 10 g al giorno nelle donne e 20 g al giorno negli uomini. L'assunzione di alcol deve essere sempre contestualizzata alle condizioni cliniche del paziente; in presenza di obesità o ipertrigliceridemia occorre limitare il consumo, mentre nelle donne in gravidanza e nei pazienti con storia di pancreatite deve essere evitato. L'uso degli alcolici è sconsigliato lontano dai pasti anche perché può favorire l'insorgere di ipoglicemie in pazienti in terapia insulinica o con ipoglicemizzanti orali.

#### *Sodio*

Come per la popolazione generale, nelle persone con diabete deve essere consigliata un'introduzione giornaliera di sale < 6 g/giorno (corrispondenti a 2400 mg al giorno di sodio). Una maggiore restrizione di sale al di sotto di 3,75-4 grammi al giorno (1500-1600 mg al giorno di sodio) deve essere consigliata in caso di ipertensione o malattia renale [4].

**Tabella 1. Raccomandazioni per la terapia nutrizionale nel diabete mellito.**

		Gruppo di studio ADI-AMD-SID “Nutrizione e diabete”*	LdP	FdR
<b>Proteine</b>	(%/kcal totali)	10-20	IV	B
<b>Grassi</b>	(%/kcal totali)	< 35	III	B
<b>Saturi + trans</b>	(%/kcal totali)	< 10 oppure < 8 se Colesterolo LDL è elevato	I	A
<b>Monoinsaturi</b>	(%/kcal totali)	10 – 20		
<b>Polinsaturi n-3</b>	(%/kcal totali)	2–3 porzioni di pesce la settimana e vegetali ricchi n-3	II	B
<b>Polinsaturi n-6</b>	(%/kcal totali)	< 10		
<b>Colesterolo</b>	(mg/giorno)	≤ 300 <200 se livelli plasmatici sono elevati	III	B
<b>Carboidrati</b>	(%/kcal totali)	45 – 60	III	B
<b>Saccarosio e altri zuccheri aggiunti</b>	(%/kcal totali)	< 10	I	A
<b>Fibre</b>	(g/1000 kcal/ giorno)	>20	I	A
<b>Alcol</b>	(g/giorno)	≤ 10 nelle donne ≤ 20 negli uomini	III	B
<b>Sale (sodio mg/giorno)</b>	(g/giorno)	<6 (2400)	II	A

\*Gruppo di studio ADI-AMD-SID “Nutrizione e diabete” Le raccomandazioni nutrizionali 2013-2014. LdP: Livello di Prova; FdR: Forza della Raccomandazione.

Nonostante il ruolo della terapia nutrizionale nell’ambito della gestione del diabete tipo 1 sia riconosciuto da tutti, la ricerca scientifica in questo specifico settore è sicuramente più limitata rispetto a quanto fatto, per esempio, in relazione al diabete tipo 2 e, in particolare, ci sono alcuni aspetti che meritano un maggiore approfondimento, quali, in primis:

- 1) una più attenta valutazione delle abitudini alimentari dei pazienti con diabete tipo 1 e della loro adesione alle raccomandazioni;
- 2) una conoscenza più approfondita dei diversi fattori che modulano la risposta glicemica postprandiale così come dei meccanismi d’azione con cui questi fattori agiscono.

## **2. Valutazione delle abitudini alimentari nel diabete tipo 1**

La valutazione delle abitudini alimentari è una problematica importante in molti campi della nutrizione, sia a livello scientifico (studi epidemiologici o di intervento) sia a livello clinico. Si hanno a disposizione molti metodi per tale valutazione (questionari di frequenza, il 24-hour-recall, la storia dietetica ed il diario alimentare) ma tutti si basano sul ricorso alla registrazione quindi, su cosa riferiscono gli individui. Infatti, si è alla ricerca, oramai da anni, di marker specifici per i singoli componenti della dieta che ne indichino in maniera più obiettiva il reale consumo e, in tal senso, la metabolomica potrebbe essere di grande aiuto. Nel frattempo dobbiamo ancora basarci su studi eseguiti con le valutazioni tradizionali. Nell'ambito del diabete tipo 1, tali studi sono limitati e i pochi che ci sono riguardano la composizione in macronutrienti. A tale proposito l'EURODIAB Complications Study, condotto ormai più di 20 anni fa in soggetti con DM1, aveva evidenziato che l'intake di grassi totali era superiore a quello raccomandato mentre l'apporto di carboidrati era al di sotto delle raccomandazioni [6]. Uno studio più recente, condotto nel 2009, ha osservato che soggetti adulti con DM1 non rispettavano l'apporto raccomandato di grassi, in particolare di grassi saturi [7]. Recentemente, uno studio condotto tra soggetti adulti finlandesi con DM1 ha evidenziato che il 51% dei pazienti raggiungeva i livelli di assunzione raccomandati riferiti ai carboidrati; che l'apporto energetico medio derivato dagli zuccheri aggiunti era al di sotto del livello raccomandato, ma almeno un quarto dei soggetti assumeva una quantità maggiore di zuccheri aggiunti rispetto a quella raccomandata. Inoltre, il 90% dei partecipanti rispettava l'intake raccomandato riferito alle proteine, mentre solo il 52% rispettava le raccomandazioni nutrizionali riferite ai grassi. In particolare, l'intake medio di acidi grassi saturi superava i livelli raccomandati e solo il 28% dei soggetti assumeva una quantità di acidi grassi saturi inferiore al 10% dell'intake giornaliero raccomandato [8].

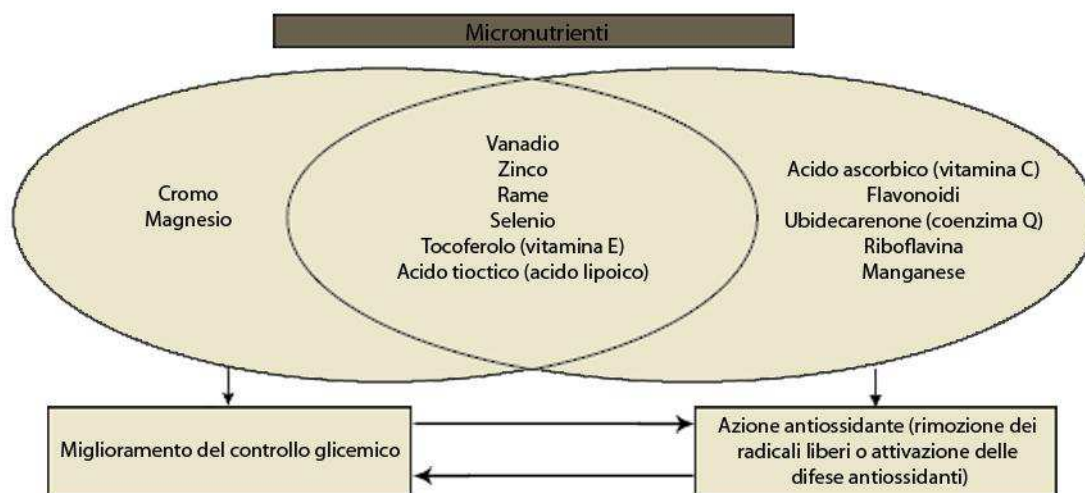
Quindi, i pochi studi sull'argomento indicano che l'adesione alle raccomandazioni nutrizionali è piuttosto bassa e che c'è una certa variabilità tra i diversi studi, dipendente, almeno in parte, anche dalle abitudini alimentari dei singoli paesi.

Oltre ai macronutrienti, anche i micronutrienti, in particolare le vitamine e i minerali, svolgono un ruolo importante sia per il mantenimento di un buon stato di salute che per la prevenzione ed il trattamento di diverse patologie. I micronutrienti sono necessari al nostro organismo in piccole quantità e partecipano alle reazioni metaboliche sotto forma di coenzimi e cofattori.

I micronutrienti potrebbero essere particolarmente importanti nel diabete perché essi potrebbero migliorare sia direttamente che indirettamente lo stress ossidativo ed il controllo glicemico, che a loro volta, potrebbero contribuire alla prevenzione delle complicanze croniche nel diabete [9] (figura 1).

A tutt'oggi, i dati su questo argomento sono veramente scarsi con uno studio effettuato in persone adulte finlandesi con diabete tipo 1 ed un altro effettuato in bambini con diabete tipo 1 [8,10].

**Figura 1. Meccanismi di azione dei micronutrienti nel diabete.**



(modificata da: Dominique Bonnefont-Rousselot, Treat Endocrinol 2004; 3 (1): 41-52)

### **3. Modulazione della risposta glicemica postprandiale**

#### *3.1 Il ruolo dei carboidrati: dalla quantità all'indice glicemico e al carico glicemico*

Nei soggetti con DM1 la comparsa e la progressione delle complicanze croniche sono strettamente dipendenti dall'efficacia del controllo glicemico. Pertanto, quanto migliore è il compenso metabolico, tanto minore è il rischio che si manifestino le complicanze a lungo

termine. Infatti gli studi condotti su pazienti affetti da DM1 hanno dimostrato che la diminuzione dei valori di HbA1c si associa ad una riduzione di queste complicanze. In particolare, la diminuzione della HbA1c da 9,0 a 7,2%, si associa ad una riduzione della frequenza di retinopatia, nefropatia e neuropatia del 50-70% [11]. L'ottimizzazione del controllo glicemico include il controllo della glicemia postprandiale.

Il contenuto in carboidrati è il principale determinante della risposta glicemica postprandiale e del fabbisogno insulinico ai pasti [12,13]. Un importante trial randomizzato e controllato su soggetti adulti con DM1 ha dimostrato un significativo miglioramento del controllo glicemico e della qualità della vita in quei pazienti che seguivano un programma di educazione alimentare basato sul calcolo dei carboidrati e sull'adeguamento delle dosi di insulina in base alla quantità di carboidrati assunti [14]. L'accuratezza del calcolo dei carboidrati risulta inoltre associata a un miglioramento del controllo glicemico con una riduzione dei livelli di HbA1c pari a 0,8% [15].

Pertanto, nel corso degli anni, numerosi metodi sono stati proposti per aiutare i pazienti a quantificare il contenuto in carboidrati dei pasti nella vita pratica: le liste di scambio, il sistema delle porzioni, la quantità in grammi, ed infine il rapporto insulina-carboidrati [16-18]. L'efficacia e la sicurezza dell'utilizzo del conteggio dei carboidrati finalizzato alla determinazione delle dosi di insulina preprandiali è stata confermata in pazienti con DM1 sia in terapia multi iniettiva [19,15] che in terapia con microinfusore di insulina [20].

Il metodo di adeguamento dei boli di insulina preprandiali, che si basa sul calcolo della quantità totale di carboidrati presenti nel pasto, ha, tuttavia, anche dei limiti importanti.

Infatti, considerare solo la quantità totale dei carboidrati non permette di tenere conto della loro diversa qualità. Come è noto, i carboidrati costituiscono una famiglia molto eterogenea per cui gli alimenti ricchi in carboidrati si differenziano tra loro sia in termini di velocità di digestione che di assorbimento.

Di conseguenza, le risposte glicemiche in vivo saranno molto diverse tra loro. L'IG di un alimento contenente carboidrati, indica, infatti, l'incremento della glicemia rispetto al tempo e si esprime come rapporto percentuale tra la risposta glicemica di un determinato alimento e la risposta glicemica di un alimento di riferimento (pane o glucosio posto uguale a 100) a parità di carboidrati contenuti [21]. Alimenti con alto IG producono un aumento del picco

della risposta glicemica post-prandiale e aumento generalizzato nelle successive 2 ore rispetto ad alimenti a basso indice glicemico.

Nella pratica, gli alimenti contenenti carboidrati possono essere classificati in base al loro effetto sulla risposta glicemica in alimenti a basso (<55 IG) o ad alto indice glicemico (>75 IG) (valori di IG riferiti al glucosio).

Le tabelle internazionali dell'IG hanno fornito la base per l'utilizzo dell'IG come strumento epidemiologico consentendo di esplorare la relazione tra il consumo di diverse tipologie di carboidrati e il rischio di malattia [21]. Studi clinico-epidemiologici hanno dimostrato che l'IG è in grado di predire la risposta glicemica post-prandiale [22], parametro che nella popolazione sana è correlato alla mortalità per tutte le cause e a quella cardiovascolare [23]. Inoltre, diete caratterizzate da un basso IG proteggono dallo sviluppo di obesità [24,25] cancro del colon [26] e cancro mammario [27]. L'IG risulta essere indipendentemente correlato alle concentrazioni ematiche di Hb1Ac negli uomini e nelle donne [28] e alla circonferenza vita negli uomini [29]. E' stato inoltre riportato che diete a basso IG si associano a livelli più elevati di colesterolo-HDL [29]. Vari trials randomizzati e controllati hanno riportato miglioramenti della HbA1c e della glicemia postprandiale in soggetti con DM1 che seguivano diete a basso IG [30,31], mentre studi recenti hanno dimostrato che un'alimentazione a basso IG si associa ad un minor numero di oscillazioni glicemiche [32,33]. Per quanto riguarda il diabete tipo 1, alcuni studi hanno dimostrato, in condizioni acute e per alimenti assunti da soli, che la quantità necessaria di insulina varia in base alla qualità dei carboidrati di un pasto [34] e che in condizioni di vita ordinaria il fabbisogno insulinico varia in base all'IG dei pasti [35,36]. E' importante però considerare che l'IG presenta un'ampia variabilità e ciò dipende dal fatto che molteplici sono i fattori che influenzano la risposta in vivo ai carboidrati e, quindi, l'IG di un alimento: 1) tipo di amido (diverso contenuto in amilosio ed amilopectina), 2) presenza di fibre, 3) stato fisico dell'alimento, 4) presenza di antinutrienti (fitati) o di fruttoligosaccaridi, e infine 5) quantità di carboidrati [37].

Anche la durata del tempo di cottura, l'aggiunta di zuccheri o di sostanze acide contribuiscono alla variabilità dell'IG di un alimento [38]. Nonostante le problematiche legate alla variabilità dell'indice glicemico, è ormai accettato che sia la qualità che la quantità dei carboidrati di un alimento influenzano la risposta glicemica in vivo. Pertanto, è importante cercare di considerare non solo l'IG ma anche la quantità totale di carboidrati di un alimento [39]. Il concetto teorico che ingloba questi due aspetti è il carico glicemico (CG). Esso non è altro che il prodotto della quantità di carboidrati presenti in una determinata porzione di alimento e l'IG dell'alimento stesso, diviso per 100. Maggiore è il CG maggiore sarà l'incremento della glicemia e l'effetto insulinogenico dell'alimento. Il consumo a lungo termine di diete ad alto CG (dopo correzione per l'energia totale) è associato ad un aumentato rischio di diabete tipo 2 e malattia coronarica [40]. L'iperglicemia postprandiale e l'iperinsulinemia compensatoria sono fattori strettamente connessi allo sviluppo di malattie croniche legate allo stile di vita [41]. Il colesterolo HDL, i trigliceridi a digiuno e la proteina C reattiva sono correlati in modo indipendente al CG della dieta. Studi prospettici osservazionali a lungo termine hanno riportato che il CG è un fattore indipendente di rischio per il diabete tipo 2 negli uomini e nelle donne [42-49], per morbilità e mortalità cardiovascolare (compreso l'ictus) nelle donne e per alcuni tipi di cancro in entrambi i sessi [50-52].

Inoltre, poiché il carico glicemico rappresenta la misura che meglio descrive l'impatto dell'alimento sulla risposta glicemica postprandiale, si è ipotizzato che esso possa rappresentare anche il migliore metodo per valutare la dose di insulina pre-prandiale nel diabete tipo 1.

### *3.2 Ruolo dei grassi*

Oltre ai carboidrati, anche gli altri macronutrienti contenuti in un pasto, possono influenzare la risposta glicemica postprandiale. Le prime osservazioni circa l'influenza dei grassi sulla glicemia in individui sani, risalgono al 1984 quando Jenkins [53], valutando l'effetto di diversi cibi sui livelli di glicemia, trovò che un alimento contenente carboidrati e

addizionato con grassi presentava un indice glicemico più basso rispetto alla stessa quantità del medesimo alimento consumato tal quale.

Studi successivi in acuto, in individui sani o con diabete di tipo 2 [54,55], hanno poi mostrato che l'aggiunta di grassi riduce la risposta glicemica precoce postprandiale (1-3 ore dal pasto) ma aumenta quella tardiva a partire cioè dalle 3 ore fino anche alle 6-8 ore successive al pasto.

Poche e discordanti sono le evidenze scientifiche che riguardano invece l'influenza della quantità dei grassi sulla glicemia postprandiale in pazienti con diabete di tipo 1.

Una review recente [56] ha raccolto i dati derivanti da 7 studi che dimostrano univocamente che, in acuto, l'aggiunta di grassi ad un pasto -in una quantità compresa tra i 6,6 e i 52 g- determina una modifica della glicemia postprandiale. Nello specifico, in alcuni studi [57-59] tali modifiche si traducono nella riduzione dell'area sotto la curva della glicemia nelle prime 2-3 ore e in un aumento di quella più tardiva. In particolare Smart et al.[59], hanno dimostrato che l'aggiunta di 35 g di grassi determina un aumento significativo della glicemia postprandiale a partire dalle 3 h dopo il pasto. In uno studio successivo che ha utilizzato il pancreas artificiale, Wolpert [60] et al., al contrario, hanno evidenziato che l'ingestione di una cena ricca in grassi determina, rispetto ad una cena povera in grassi, un aumento significativo dei livelli di glicemia nella fase postprandiale precoce. Un solo studio [61] non ha mostrato alcuna modifica della glicemia postprandiale conseguente all'ingestione di grassi probabilmente anche a causa di un tempo di osservazione breve, pari a sole 3 ore. Le discrepanze nei risultati di questi studi sono probabilmente dovute a vari fattori tra cui differenze nel disegno dello studio, nel metodo di determinazione della risposta glicemica e della dose preprandiale di insulina. Uno degli aspetti più rilevanti può essere stata la diversa fonte di grasso aggiunto al pasto test.

I primi dati relativi al possibile effetto della qualità dei grassi sulla risposta glicemica postprandiale risalgono allo studio di Gatti et al [62], condotto nel 1992, che ha dimostrato come l'aggiunta al pasto di grassi monoinsaturi (olio di oliva) rispetto all'aggiunta di grassi saturi (burro) riduca significativamente la glicemia postprandiale in individui sani. Studi simili [63,64] non sono però giunti ad analoghe conclusioni e non ci sono evidenze nel diabete tipo 1.



#### **4. Scopo e linee di ricerca**

Nonostante l'importanza delle raccomandazioni nutrizionali nel soggetto con diabete mellito tipo 1, ancora pochi studi sono disponibili in letteratura per valutare l'adesione a tali raccomandazioni, soprattutto per quanto riguarda l'assunzione di micronutrienti. Inoltre, relativamente ai macronutrienti, non sono ad oggi disponibili studi che abbiano valutato il carico glicemico e la qualità dei grassi come possibili fattori in grado di modulare la risposta glicemica postprandiale. In particolare, i meccanismi alla base degli effetti mediati dai grassi, sono poco chiari.

Pertanto, al fine di chiarire queste problematiche, le linee di ricerca seguite durante il corso di Dottorato si sono sviluppate in tre tematiche principali:

1. Valutazione dell'intake di macro e micronutrienti in soggetti adulti con diabete mellito tipo 1 e adesione alle raccomandazioni nutrizionali.
2. Valutazione del ruolo della quantità e qualità dei carboidrati sulla risposta glicemica postprandiale e pianificazione di un percorso formativo per l'utilizzo del Carico Glicemico per la determinazione del bolo prandiale di insulina nei pazienti con diabete mellito tipo 1.
3. Valutazione del ruolo della diversa qualità di grassi sulla risposta glicemica postprandiale e studio dei possibili meccanismi: Progetto FACILE.

## **5. Protocolli sperimentali**

### **5.1 Intake di micronutrienti in una coorte di italiani adulti con diabete mellito tipo 1: adesione alle raccomandazioni nutrizionali (pubblicato su Journal of Diabetes Research, 2017).**

#### **Background**

Oltre ai macronutrienti, anche i micronutrienti, in particolare le vitamine e i minerali, svolgono un importante ruolo sia per il mantenimento di un corretto stato di salute che per la prevenzione ed il trattamento di diverse patologie [65,66]. Pertanto, per ogni vitamina e minerale, vengono fornite precise raccomandazioni nutrizionali. Tuttavia, ciò può essere ancora più importante nelle persone con diabete, in quanto diverse vitamine e minerali svolgono un ruolo cruciale nella regolazione del metabolismo del glucosio a diversi livelli (azione insulinica, stress ossidativo, infiammazione) e nella prevenzione delle complicanze [67]. Nonostante i micronutrienti svolgano diverse importanti funzioni nel nostro organismo, esistono pochi dati in letteratura in merito ai livelli di assunzione dietetica nella popolazione generale e ancor di meno nei pazienti con diabete mellito tipo 1 [10,11,68].

Come abbiamo precedentemente descritto, la terapia medica nutrizionale, unitamente alla terapia insulinica, rappresenta un indispensabile strumento per il raggiungimento di un buon controllo glicometabolico. Tuttavia, in questi pazienti la terapia dietetica è essenzialmente incentrata sulla quantità e sulla qualità dei carboidrati, utili per determinare le dosi di insulina da praticare ai pasti [69,70]. Concentrarsi esclusivamente sul ruolo dei carboidrati, può indurre sia i pazienti che gli operatori sanitari a trascurare l'effetto degli altri macro [71] e micronutrienti. Purtroppo in letteratura sono presenti pochi dati che abbiano descritto l'assunzione di micronutrienti nella popolazione con diabete mellito tipo 1. In particolare, uno studio si riferisce a bambini con diabete di tipo 1 [10] e un altro ad una popolazione finlandese adulta con diabete di tipo 1 [11].

**Scopo:** Valutare in una coorte di adulti con diabete tipo 1 i livelli di assunzione di micronutrienti (sia vitamine che minerali) e l'adesione alle raccomandazioni dietetiche..

**Materiali e metodi:**

Partecipanti: Sono stati arruolati 60 soggetti con diabete mellito di tipo 1, di ambo i sessi, di età compresa tra i 18 e 60 anni, con un IMC di  $25,5 \text{ kg/m}^2$ , in discreto compenso glicemico (HbA1c 7,6%) afferenti all'ambulatorio del Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia dell'Università Federico II di Napoli da almeno sei mesi e visitati consecutivamente in un periodo di 6 mesi. I criteri di esclusione sono stati la gravidanza, la celiachia, l'insufficienza renale (creatinina sierica  $> 1,5 \text{ mg / dL}$ ) e altre patologie acute o croniche a parte il diabete. Per poter valutare l'intake di macro e micronutrienti, è stato chiesto a ciascun partecipante di compilare in maniera dettagliata un diario alimentare di 7 giorni.

In particolare era importante riportare:

- la quantità di alimenti e bevande, verificata attraverso l'utilizzo di una bilancia pesa alimenti oppure mediante misure casalinghe,
- il pasto in cui veniva consumato l'alimento (colazione, spuntino, pranzo, spuntino pomeridiano, cena, spuntino serale),
- il tipo di prodotto e, se possibile, la marca commerciale,
- il metodo di cottura utilizzato.

Tutti i diari alimentari, al momento della restituzione, venivano controllati dal dietista per migliorare la completezza delle informazioni registrate. Sono stati somministrati complessivamente 140 diari alimentari. Di questi, 64 diari sono stati restituiti compilati e 4 sono stati esclusi per incompletezza. Nessun partecipante ha riportato il proprio consumo di acqua quotidiano, e, dal momento che l'acqua rappresenta un'importante fonte di calcio e magnesio, abbiamo considerato per tutti i soggetti una quantità fissa di acqua al giorno pari a 1000 ml contenente una quantità media di calcio (150 mg) e di magnesio (13 mg).

L'intake energetico e la composizione in macro e micronutrienti è stata calcolata mediante il software MetaDieta (Meteda s.r.l., Ascoli Piceno, Italia) che utilizza i dati nutrizionali contenuti nelle Tabelle Italiane di composizione degli Alimenti [72].

La composizione di macronutrienti, espressa in percentuale rispetto all'apporto energetico totale, è stata confrontata con le raccomandazioni nutrizionali fornite dagli Standard italiani per la cura del diabete mellito [4] e dall'associazione europea per lo studio del diabete (EASD) [73].

Per tener conto della possibile sottostima, gli introiti relativi ai micronutrienti sono stati espressi per 1000 kcal e confrontati ai livelli raccomandati di assunzione espressi per 1000 kcal, considerando un introito energetico medio pari a 1800 kcal per le donne e a 2000 kcal per gli uomini. E' stata inoltre riportata la percentuale dei pazienti che aderiscono alle raccomandazioni fornite dalla Società Italiana di Nutrizione Umana [74].

Ciascun soggetto, durante le visite ambulatoriali periodiche, è stato sottoposto al rilevamento delle misure antropometriche (altezza, peso e circonferenza vita) secondo tecniche standardizzate [75] ed alla determinazione delle concentrazioni di HbA1c e dei lipidi plasmatici.

L'indice di massa corporea (IMC) è stato calcolato dal rapporto tra il peso (kg) e l'altezza al quadrato ( $m^2$ ).

L'emoglobina glicata è stata misurata attraverso cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC). Le concentrazioni plasmatiche dei trigliceridi e del colesterolo sono state analizzate mediante metodi enzimatici colorimetrici. La concentrazione del colesterolo LDL è stata calcolata usando la formula di Friedwald.

### **Analisi statistica**

I dati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard ( $M \pm DS$ ). Le differenze tra donne e uomini sono state valutate attraverso il test-t per campioni indipendenti. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo. L'analisi statistica è stata eseguita secondo i metodi standard mediante il software Statistical Package for Social Sciences versione 21.0 (SPSS/PC; SPSS, Chicago, IL, USA).

## Risultati

I partecipanti (n=60), divisi per sesso, non differivano tra loro per età, durata della malattia e compenso glicemico. Anche l'indice di massa corporea non differiva tra i gruppi. Come atteso, le donne avevano una circonferenza vita inferiore e livelli di colesterolo HDL più elevati rispetto agli uomini. Non si sono osservate differenze per quanto riguarda le concentrazioni plasmatiche di colesterolo LDL e trigliceridi (tabella 2).

**Tabella 2. Caratteristiche principali dei soggetti con diabete tipo 1 partecipanti allo studio.**

	Tutti (N = 60)	Uomini (N = 30)	Donne (N = 30)
Età (anni)	35.8±11.3	35.5±11.1	36.0±11.8
Durata del diabete (anni)	17.3±10.7	16.4±10.5	18.4±11.1
HbA1c (%)	7.6±0.8	7.6±0.9	7.7±0.7
HbA1c (mmol/mol)	59.9±9.3	59.5±10.8	60.4±7.8
Indice di massa corporea (kg/m <sup>2</sup> )	25.5±3.7	25.7±3.4	25.2±4.0
Circonferenza vita (cm)	86.3±10.9	90.1±10.4	81.9±9.9*
HDL colesterolo (mg/dL)	62.7±14.1	57.4±13.1	67.4 ±13.5*
LDL colesterolo (mg/dL)	99.3±33.2	92.3±26.3	106.1±37.9
Trigliceridi (mg/dL)	82.2±42.9	92.5±56.3	72.6±22.3

I dati sono espressi come media ± DS. \* p < 0.05 vs. uomini.

Il 55% dei soggetti praticava insulina attraverso iniezioni multiple giornaliere (MDI) mentre il 45% mediante infusione continua sottocutanea (CSII). Non sono state rilevate differenze relativamente ai parametri considerati tra MDI e CSII. Nella tabella 3, sono riportati l'introito energetico e la composizione della dieta separatamente per uomini e donne. L'assunzione di energia risulta piuttosto bassa in entrambi i sessi; il consumo di micronutrienti è, in media, nell'ambito dell'intake raccomandato ad eccezione del consumo di fibra che risulta essere sostanzialmente inferiore al livello raccomandato. Anche l'introito di sodio risulta inferiore alle raccomandazioni, ma bisogna sottolineare che si tratta solo di

NaCl naturalmente presente negli alimenti in quanto non è stata valutata la quantità aggiunta agli alimenti

**Tabella 3. Apporto energetico e composizione della dieta dei soggetti con diabete mellito tipo 1 partecipanti allo studio.**

Nutrienti	Tutti (N = 60)	Uomini (N = 30)	Donne (N = 30)	Raccomandazioni <sup>(§)</sup>
Energia (kcal/die)	1653±367	1842±364	1464±261***	NA
Alcol (ET%)	14.9±5.1	22.4±60.4	7.5±3.9	NA
Alcol (g)	2.1±7.3	8.6±1.6	5.6±1	10 M - 20 W
Carboidrati (ET%)	49.3±5.4	51±4.9	47.6±5.5*	45-60
Totale zuccheri solubili (ET%)	14.1±4.2	13.3±4.4	15±3.8	NA
Zuccheri aggiunti (ET%)	2.4±2.8	2.7±3.6	2.1±1.7	<10
Proteine (ET%)	17.7±2.4	17.9±2.7	17.5±2.1	10-15
Grassi (ET%)	32.8±5.3	30.9±5.1	34.7±4.9**	≤35
Acidi grassi saturi (ET%)	8.8±2.5	8.4±2.3	9.2±2.7	< 10
Acidi grassi monoinsaturi (ET%)	15.2±3.2	14.5±3.5	15.9±2.7	> 10
Acidi grassi polinsaturi (ET%)	3.9±0.8	3.9±0.8	3.9±0.7	< 10
Colesterolo (mg)	188±65.6	206.7±62.7	169.3±64.1*	< 300
Indice Glicemico (%)	55.6±4.6	56.4±4.7	54.8±4.3	45-55
Fibra (g/1000 kcal)	11.8±4.2	11.2±4.2	12.5±4.1	> 20
NaCl (g) <sup>(+)</sup>	4.3±1.5	4.9±1.7	3.8±1.0*	< 6

I dati sono espressi come media ± DS. \*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001 vs. uomini. NA = non applicabile; ET = energia totale; (+) NaCl naturalmente presente negli alimenti; (§) Standard Italiani di cura ADI-AMD-SID (2013-2014).

Nella tabella 4 sono riportati gli apporti raccomandati di vitamine e minerali per uomini e donne e le percentuali di adesione alle raccomandazioni dietetiche.

Sia gli uomini che le donne raggiungono livelli soddisfacenti di adesione per quanto riguarda la vitamina A, la vitamina B6, B12, la niacina e la vitamina C (intervallo di adesione compreso tra 77% e 100%). Tuttavia, la metà dei pazienti non raggiunge l'introito raccomandato per i folati e l'adesione è ancora più bassa per la vitamina E (20% per gli uomini e 43% per le donne); inoltre, nessun soggetto aderisce alle raccomandazioni per la vitamina D. Per quanto riguarda i minerali, l'adesione è stata estremamente bassa per il potassio (7% per gli uomini e 0% per le donne) e selenio (23% per uomini e donne) e intermedia per lo zinco, il rame e il magnesio. Gli uomini e le donne mostrano differenze

relativamente agli apporti di calcio e ferro, ed in particolare si è osservato un basso introito di calcio negli uomini (50%) e intermedio nelle donne (73%) mentre per quanto riguarda il ferro, il livello di adesione negli uomini è alto (97%) e basso nelle donne (57%).

**Tabella 4. Apporto di vitamine e minerali (espresso per 1000 kcal) dei pazienti con diabete mellito tipo 1 e adesione alle raccomandazioni nutrizionali (LARN)(\*).**

	Uomini			Donne		
	RI/1000 kcal	Apporto/1000 kcal	Adesione (%)	RI/1000 kcal	Apporto/1000 kcal	Adesione (%)
<b><u>Vitamine</u></b>						
Vitamina A (µg)	250	440.9±226.1	80	222.2	537.2±250.7	93.3
Vitamina D (µg)	5	1.4±0.9	0	5.5	1.1±0.9	0
Vitamina E (mg)	6.5	5.6±1.5	20	6.7	6.5±1.5	43.3
Tiamina (mg)	0.5	0.5±0.1	66.7	0.5	0.6±0.2	76.7
Riboflavina (mg)	0.6	0.6±0.1	40	0.61	0.7±0.1	80
Vitamina B6 (mg)	0.5	0.9±0.2	100	0.61	1±0.3	96.7
Vitamina B12 (µg)	1	2.3±1.4	96.7	1.1	2.2±0.9	90
Folati (µg)	160	178.1±76.3	46.7	177.8	196.8±67	52.3
Vitamina C (mg)	37.5	70.7±52	76.7	33.3	86.3±46.8	83.3
Niacina (mg)	7	9.7±2.8	80	7.8	10±2.7	80
<b><u>Minerali</u></b>						
Calcio (mg)	400	403.6±121.3	50	444.4	493.4±79	73.3
Potassio (mg)	1950	1403±352	6.7	2166	1541±316	0
Magnesio (mg)	85	94.5±28.5	63.3	94.4	102.9±24.2	60
Ferro (mg)	3.5	5.6±1.9	96.7	5.5	6.1±1.5	56.7
Zinco (mg)	5	5.1±0.8	60	4.4	5.3±1.1	76.7
Rame (mg)	0.3	0.4±0.1	66.7	0.4	0.4±0.1	63.3
Selenio (µg)	22.5	18.8±6.5	23.3	25	20.2±8.2	23.3

I dati sono espressi come media ± DS. (\*) Società Italiana di Nutrizione Umana. Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed Energia per la popolazione italiana (LARN – IV revisione 2014).

## Discussione

I risultati del nostro studio hanno evidenziato che la composizione in macronutrienti della dieta seguita dai soggetti partecipanti allo studio è, almeno per quanto riguarda i valori medi, nell'ambito delle raccomandazioni nutrizionali per pazienti con diabete mellito tipo 1. Soltanto l'apporto di fibre risulta basso, confermando i risultati ottenuti in soggetti con diabete mellito tipo 2 provenienti dalla stessa area geografica [76,77].

Per quanto riguarda invece l'apporto di micronutrienti, si è osservata una scarsa adesione, in particolare per alcuni di essi. Infatti, per quanto riguarda le vitamine, nessun soggetto aderisce alle raccomandazioni per la vitamina D. Inoltre, l'adesione risulta scarsa per la vitamina E ed i folati, e nelle donne, per la riboflavina. Relativamente ai minerali, l'adesione è stata molto scarsa per il potassio, scarsa per il selenio e non soddisfacente per il calcio (soprattutto negli uomini) e per il ferro (nelle donne). Gli apporti relativi agli altri micronutrienti pur non raggiungendo pienamente i livelli di adeguatezza, sono risultati più soddisfacenti.

Sicuramente il dato più rilevante è stato quello relativo alla vitamina D, in quanto nessun soggetto ha aderito alle raccomandazioni nutrizionali riferite a questa vitamina. Questo dato conferma i risultati riportati per la popolazione generale proveniente da diverse nazioni, Italia, Stati Uniti e Finlandia [68,78,79], e ulteriormente confermati in pazienti finlandesi con diabete mellito tipo 1 [11]. Per cercare di comprendere le ragioni che supportano questo scarso apporto, abbiamo valutato il consumo degli alimenti più ricchi di vitamina D, il pesce e i prodotti caseari. Nella nostra popolazione, il consumo di pesce (1 porzione in media alla settimana) risulta molto scarso, e quello dei prodotti caseari (meno di 2 porzioni al giorno) è risultato più basso rispetto a quello raccomandato (3 porzioni al giorno) dalle linee guida americane [79].

Anche l'adesione al fabbisogno raccomandato di potassio è risultata molto bassa. Questo dato risulta correlato allo scarso consumo di vegetali e frutta tra i partecipanti allo studio.

Relativamente agli altri micronutrienti per i quali abbiamo riscontrato una scarsa o inadeguata adesione, l'apporto di questi è risultato più basso se confrontato ai risultati



descritti dall'unico studio che ha valutato l'adesione in soggetti con diabete mellito tipo 1 [11], mentre sono abbastanza in linea con quella riscontrata nella popolazione generale. Il ridotto apporto di micronutrienti tra i nostri pazienti dipende, da un punto di vista alimentare, da un ridotto consumo di pesce e prodotti caseari, ma anche di legumi e vegetali, come evidenziato dal ridotto apporto di fibra.

La scarsa adesione per alcuni micronutrienti nella nostra popolazione di pazienti con diabete di tipo 1 è risultata piuttosto inaspettata. Questi pazienti, che ricevono precise raccomandazioni dietetiche, dovrebbero tradurre le informazioni acquisite in scelte alimentari salutari e consapevoli. Purtroppo però, sia gli operatori sanitari, sia, più spesso i pazienti focalizzano la loro attenzione sulla quantità totale dei carboidrati attraverso la quale regolano le dosi di insulina pre-prandiali da praticare, trascurando gli altri aspetti generali della dieta, tra cui il consumo di alimenti che rappresentano la principale fonte di alcuni micronutrienti. Inoltre, spesso i pazienti, al fine di evitare variazioni nella risposta glicemica postprandiale, preferiscono far ricadere le proprie scelte alimentari sempre sui medesimi alimenti. Questo comportamento può contribuire a rendere la dieta inadeguata da un punto di vista degli apporti consigliati relativi ai micronutrienti.

L'apporto inadeguato di alcuni importanti micronutrienti nei pazienti con diabete tipo 1 può comportare un peggioramento del compenso glicemico, una maggiore suscettibilità all'insorgenza di complicanze micro- e macroangiopatiche e sia un aumento del rischio di osteoporosi. Diventa pertanto di fondamentale importanza sviluppare strategie adeguate per migliorare i livelli di assunzione dei micronutrienti sia nella popolazione generale che, in particolare, in soggetti con diabete mellito tipo 1. A questo proposito è stato stimato che negli Stati Uniti il consumo raccomandato di prodotti caseari potrebbe colmare l'inadeguato apporto di calcio per tutte le età sia negli uomini che nelle donne e migliorare, parzialmente, l'assunzione di vitamina A e magnesio.

Tuttavia, un'assunzione adeguata di prodotti lattiero-caseari potrebbe non bastare a ridurre la scarsa adesione per la vitamina D e per il potassio, per i quali occorrerebbero altre strategie come ad esempio favorire l'esposizione al sole (se possibile e con moderazione) e

aumentare il consumo di alimenti ricchi in vitamina D (in particolare il pesce) e potassio (legumi, vegetali e frutta) [80].

Uno dei punti di forza del nostro studio è rappresentato dall'utilizzo del diario alimentare settimanale, che è considerato lo strumento gold-standard per la valutazione delle abitudini alimentari a livello individuale. Una limitazione invece è rappresentata dalla possibile sottostima relativa ai consumi alimentari che è un svantaggio comune a molti strumenti di rilevazione delle abitudini alimentari. Inoltre, aver compilato il diario alimentare settimanale in un solo momento dell'anno non permette di tenere conto della variabilità stagionale degli alimenti.

Infine, i risultati osservati in questa coorte relativamente piccola dovrebbero essere confermati in popolazioni più ampie di pazienti con diabete mellito tipo 1. A questo proposito, è da sottolineare, però, che ottenere dati sulle abitudini alimentari in questa categoria di pazienti potrebbe essere abbastanza difficile, come dimostrato dalla bassa percentuale di persone che ha partecipato al nostro studio compilando il diario alimentare (percentuale di compilazione sovrapponibile a quella raggiunta in un precedente studio) [11]. Possiamo, quindi ipotizzare che la mancata compilazione del diario alimentare riveli, tra i pazienti, una scarsa considerazione dell'importante ruolo della terapia nutrizionale e del diario come strumento di autovalutazione delle proprie scelte alimentari. Il basso tasso di partecipazione potrebbe aver pertanto celato livelli di adesione ancora più bassi.

In conclusione, il nostro studio sottolinea che la dieta seguita dai pazienti con diabete mellito tipo 1 potrebbe essere inadeguata per quanto riguarda l'assunzione di micronutrienti. Si rende pertanto necessario implementare strategie ben delineate per migliorarne i livelli di assunzione. Per raggiungere questo obiettivo, un adeguato apporto di prodotti caseari – a ridotto contenuto in grassi – pesce, legumi, e vegetali dovrebbe essere incoraggiato come componente essenziale per il mantenimento di un corretto stato di salute.

## **5.2 Il carico glicemico vs. il conteggio dei carboidrati per il calcolo del bolo prandiale in pazienti con diabete tipo 1 in trattamento con microinfusore di insulina (pubblicato su Acta Diabetologica, 2015).**

### **Background**

I carboidrati della dieta giocano un ruolo fondamentale nella regolazione della risposta glicemica postprandiale e, pertanto nel fabbisogno di insulina prandiale dei soggetti con diabete tipo 1 [13].

Le attuali linee guida raccomandano che gli algoritmi per il calcolo della dose prandiale di insulina nei pazienti con DM1 siano basati sulla quantità totale dei carboidrati del pasto e quindi calcolati attraverso il conteggio dei carboidrati (CC) [3]. Tuttavia, il CC non garantisce un controllo glicemico ottimale per le sue molteplici limitazioni [81,82]. Inoltre, l'utilizzo del CC è stato associato a scelte alimentari poco salutari caratterizzate da un apporto di grassi e proteine in eccesso rispetto all'introito raccomandato. D'altra parte, la risposta glicemica postprandiale risulta, influenzata non solo dalla quantità dei carboidrati ma anche dalla loro qualità [34,69,83-85]. Il Carico Glicemico, ottenuto dal prodotto dell'indice glicemico per la quantità totale dei carboidrati contenuti nell'alimento, tiene conto di ambedue gli elementi e si è dimostrato in grado di predire la risposta glicemica ed insulinica postprandiale in maniera più accurata rispetto all'utilizzo del CC in giovani adulti sani [41].

Uno studio ecologico ha inoltre confermato tali osservazioni in soggetti con diabete mellito tipo 2, dimostrando come il carico glicemico fosse un predittore indipendente della variabilità glicemica in condizioni di vita reale [86]. Anche in soggetti con DM1, la qualità dei carboidrati influenza l'ampiezza e la durata della risposta glicemica postprandiale sia in termini di aumento che di riduzione [5,87]. È prevedibile che la dose di insulina calcolata attraverso il conteggio dei carboidrati risulti insufficiente per i pasti ad alto carico glicemico e eccessiva, invece, per i pasti a basso carico glicemico.

Sono stati effettuati alcuni tentativi, in contesti sperimentali, per superare questa criticità attraverso la modulazione del profilo insulinico prandiale [88]. L'utilizzo di un bolo ad

onda doppia [87] o di insuline caratterizzate da differenti profili cinetici [88] ha migliorato la risposta glicemica postprandiale in risposta a pasti a basso indice glicemico ma non ad alto indice glicemico.

Pertanto, abbiamo ipotizzato che l'uso degli algoritmi per il calcolo delle dosi prandiali di insulina basati anche sulla qualità dei carboidrati (ovvero considerando il carico glicemico degli alimenti) potesse migliorare il compenso glicemico in pazienti con diabete mellito tipo 1 rispetto agli attuali algoritmi che tengono conto solo della quantità totale dei carboidrati del pasto.

### **Scopo**

Valutare, in un contesto di vita reale, la fattibilità e la validità del calcolo del carico glicemico come metodo per l'aggiustamento delle dosi prandiali di insulina rispetto al conteggio del contenuto in carboidrati del pasto in pazienti con DM1 in trattamento insulinico mediante microinfusore.

### **Materiali e metodi**

*Partecipanti:* Hanno partecipato allo studio 9 soggetti (6D e 3U) con diabete mellito tipo 1 in trattamento con microinfusore di insulina, di età compresa tra 18 e 65 anni che avevano conoscenza della tecnica di conteggio dei carboidrati e di utilizzo del carico glicemico, afferenti al reparto di Diabetologia del Policlinico AOU Federico II di Napoli. A tutti i partecipanti inoltre è stato impiantato un sistema di monitoraggio in continuo della glicemia (CGM).

I criteri di esclusione sono stati la gravidanza, valori di emoglobina glicosilata  $> 9\%$  e la presenza di gravi patologie acute o croniche a parte il diabete. I partecipanti allo studio non presentavano storia o sintomi di altre patologie e non erano vegetariani. Tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato prima di essere inclusi nello studio. Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico per le Attività Biomediche dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II".

## **Disegno dello studio e procedure**

Lo studio è stato condotto secondo un disegno cross-over. In accordo con il disegno dello studio, i partecipanti sono stati assegnati in maniera casuale ad un primo periodo sperimentale di due settimane, nel quale, per il calcolo del bolo pre-prandiale di insulina, hanno utilizzato il rapporto insulina/carboidrati (periodo CC) oppure il rapporto insulina/carico glicemico (periodo CG), passando all'altro metodo di calcolo, la settimana successiva.

Nel periodo sperimentale i partecipanti hanno seguito il proprio modello di dieta abituale, con la sola raccomandazione di replicare durante la seconda settimana la qualità e la quantità dei pasti consumati durante la prima settimana.

Tutti i partecipanti sono stati addestrati all'utilizzo del conteggio dei carboidrati/CG nell'ambito di un percorso educativo strutturato precedente allo studio. I rapporti personalizzati insulina/carboidrati e insulina/carico glicemico sono stati determinati sulla base dei diari alimentari compilati durante gli incontri strutturati del percorso educativo effettuati il mese precedente allo studio. Ciascun partecipante ha riportato sul proprio diario alimentare la quantità espressa in grammi degli alimenti consumati, con i corrispondenti grammi di carboidrati oppure carico glicemico, la glicemia capillare a digiuno e due ore dopo il pasto e le unità di insulina praticate. La quantità in grammi di carboidrati o il carico glicemico riferiti a 100 grammi di un alimento o alla porzione media, è stata ottenuta dalle tabelle, consegnate ai partecipanti, che contenevano la quantità in grammi di carboidrati o il carico glicemico, rispettivamente. Per ogni pasto, i rapporti insulina/carboidrati e insulina/carico glicemico sono stati ottenuti dalla somma dei carboidrati totali o dei valori di carico glicemico degli alimenti, diviso la dose di insulina prandiale. I valori medi del rapporto insulina/carboidrati e insulina/carico glicemico sono stati calcolati a colazione, pranzo e cena, per 7 giorni. L'inverso del rapporto insulina/carboidrati e insulina/carico glicemico è stato utilizzato per calcolare le dosi di insulina durante il periodo sperimentale.

Durante il periodo sperimentale, i partecipanti hanno compilato il diario settimanale riportando o i grammi totali di carboidrati (periodo CC) o il carico glicemico (periodo CG)

dei diversi alimenti. La quantità in grammi di carboidrati o il carico glicemico dei diversi alimenti è stato ricavato dalle tabelle fornite all'inizio di ciascun periodo sperimentale.

Nel caso di alimenti di cui non si conosceva l'indice glicemico, i partecipanti sono stati istruiti a calcolare il valore di carico glicemico riferendosi all'alimento più simile per struttura e composizione. I partecipanti hanno inoltre riportato sul diario settimanale anche gli alimenti non contenenti carboidrati.

I partecipanti hanno calcolato i boli prandiali dividendo, durante il periodo CC, il contenuto in grammi di carboidrati del pasto per il proprio rapporto insulina/carboidrati o, durante il periodo CG, il carico glicemico del pasto per il proprio rapporto insulina/carico glicemico.

I partecipanti che regolarmente usavano il suggeritore di boli per determinare il bolo insulinico prandiale, lo hanno continuato ad utilizzare considerando la quantità totale di carboidrati o il carico glicemico, durante il periodo conteggio dei carboidrati o quello carico glicemico. Le tabelle utilizzate dai partecipanti, riportavano la quantità totale dei carboidrati degli alimenti fornita dall'Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione [72]. L'indice glicemico della maggior parte degli alimenti riportati nelle tabelle è stato ricavato dalle tabelle internazionali dell'indice e del carico glicemico [21]. Per gli alimenti rimanenti è stato ottenuto da studi sperimentali non pubblicati.

I partecipanti hanno inoltre registrato i valori delle glicemie capillari effettuate attraverso il reflottometro a casa, 2 ore prima e 2 ore dopo colazione, pranzo e cena, e le unità di insulina praticate prima dei pasti. La velocità di infusione basale di insulina non è stata modificata durante il periodo di studio.

All'inizio di ciascuna settimana sperimentale è stato installato un sensore per il monitoraggio in continuo della glicemia in cieco (i-Pro-2 Medtronic System). Al termine dei due periodi di intervento, i dati sono stati scaricati dal microinfusore e dal sistema di monitoraggio in continuo della glicemia attraverso software specifici.

### **Analisi statistica**

Il calcolo della dimensione del campione basato sulla differenza dell'area incrementale sotto la curva del glucosio (iAUC) osservata in uno studio precedente tra pasti con la stessa quantità di carboidrati ma diversi per indice glicemico ha dimostrato che per

identificare un effetto di non inferiorità del carico glicemico rispetto al metodo del conteggio dei carboidrati sull'outcome principale, i.e. l'area incrementale del glucosio a 3 ore, con un potere dell'80% e un livello di significatività del 5%, dovevano essere studiati 6 pazienti secondo un disegno di studio cross-over.

I dati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard ( $M \pm DS$ ) se non diversamente specificato.

L'area incrementale della glicemia postprandiale è stata calcolata mediante metodo trapezoidale. L'ampiezza delle variazioni relative alla glicemia postprandiale è stata calcolata come la differenza tra il valore più alto e quello più basso raggiunto dal glucosio e registrato attraverso il monitoraggio in continuo della glicemia nelle 3 ore successive al pasto.

Le differenze tra i due periodi sperimentali (periodo CC e CG) sono state valutate attraverso il t-test per dati appaiati. È stata considerata statisticamente significativa una  $p < 0,05$ . Le variabili non distribuite normalmente sono state analizzate dopo trasformazioni logaritmiche o attraverso test statistici non parametrici.. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando la versione 21 del Software Statistical Package for Social Sciences (SPSS/PC; SPSS, USA).

## **Risultati**

### *Caratteristiche dei soggetti:*

I partecipanti avevano un'età di  $37 \pm 11$  anni ( $M \pm DS$ ), HbA1c  $7,7 \pm 0,8\%$  ( $61 \pm 9$  mmol/mol), durata del diabete  $18 \pm 5$  anni, indice di massa corporea  $27 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup> e non presentavano segni di altre malattie acute o croniche, ad eccezione del diabete. Dei 9 partecipanti arruolati, tutti hanno portato a termine entrambe le fasi di sperimentazione con una buona adesione al protocollo sperimentale.

### *Composizione dei pasti*

Dall'analisi dei diari si osserva come in entrambi i periodi di sperimentazione, i pazienti abbiano mantenuto un'alimentazione simile e la composizione in macronutrienti della dieta è stata sovrapponibile tra le due settimane (tabella 5). La composizione della dieta è risultata in accordo alle raccomandazioni nutrizionali per i pazienti con diabete [89].

**Tabella 5. Caratteristiche bromatologiche della dieta durante le due settimane sperimentali.**

	Colazione		Pranzo		Cena	
	CCG	CC	CCG	CC	CCG	CC
CHO totali (%ET)	7.0±2.9	6.8±2.4	21±3	21±4	19±4	18±4
CHO solubili (%ET)	4.2±2.1	4.2±1.5	6.3±2.0	6.0±1.9	6.3±3.2	5.8±2.6
Grassi totali (%ET)	2.2±1.2	2.0±1.0	16±2	15±2	15±4	16±4
Grassi saturi (%ET)	0.89±0.48	0.85±0.44	3.6±0.8	3.4±0.7	4.0±1.12	4.0±1.2
Proteine (%ET)	2.3±1.3	2.2±1.2	8.9±2.5	8.5±2.3	9.2±1.5	9.9±2.2
Fibre (g)	1.4±1.7	1.6±1.6	11±4	11±5	9.1±3.8	9.3±3.2
Carico glicemico	14±7	14±7	42±13	43±12	44±14	44 ±14

I dati sono espressi come Media±DS. CCG. conteggio del carico glicemico; CC. conteggio dei carboidrati; CHO. carboidrati; ET. energia totale.

#### *Dosi di insulina*

Le dosi giornaliere totali di insulina e quelle relative all'infusione basale sono state simili durante le due settimane sperimentali (Tabella 6). Al contrario, le dosi di insulina preprandiale sono state significativamente più basse a colazione durante il periodo CG rispetto al periodo CC e sono state invece simili a pranzo ed a cena (Tabella 6). La quantità totale di insulina somministrata a pranzo ed a cena durante il periodo CG e CC è stata simile in media nei due periodi di osservazione, tuttavia variava la distribuzione delle dosi praticate nei due periodi sperimentali. Si è osservata, in particolare, una maggiore variazione durante il periodo CG. Infatti, le differenze tra la maggiore e la minore dose di insulina erogata a cena sono state significativamente più ampie durante il periodo CG rispetto a quello CC ( $8.4 \pm 6.2$  vs.  $6.0 \pm 3.9$  UI,  $p=0.041$ ) (tabella 6).

Questo dato deriva dalla maggiore dose di insulina praticata prima del pasto ad alto carico glicemico e dalla minore praticata prima del pasto a basso carico glicemico. I pasti sono stati definiti ad alto o basso carico glicemico in base al valore di carico glicemico al di sopra o al di sotto del valore individuale della mediana di ciascun soggetto, calcolato separatamente per pranzo o cena dai diari settimanali. Come mostrato in tabella 6, il calcolo basato sul carico glicemico determina variazioni significativamente più ampie nelle



dosi di insulina a cena tra pasti ad alto o basso carico glicemico rispetto al conteggio dei carboidrati ( $p=0.001$ ).

**Tabella 6. Dosi di insulina (U.I) somministrate durante il periodo CG e CC.**

	CG	CC	p
Dose totale giornaliera	$45 \pm 10$	$44 \pm 9$	0.386
Infusione basale giornaliera	$26 \pm 7$	$26 \pm 8$	0.586
<i>Bolo prandiale</i>			
<i>Colazione</i>	$3.0 \pm 1.6$	$3.6 \pm 1.8$	0.004
<i>Pranzo</i>	$7.7 \pm 3.3$	$8.0 \pm 3.3$	0.254
<i>Cena</i>	$6.0 \pm 3.8$	$5.8 \pm 3.0$	0.216
<i>Differenza tra dose maggiore e minore</i>			
<i>Pranzo</i>	$6.0 \pm 4.3$	$5.7 \pm 3.2$	0.729
<i>Cena</i>	$8.4 \pm 6.2$	$6.0 \pm 3.9$	0.041
<i>Differenza nei boli praticati per i pasti ad alto o basso carico glicemico</i>			
<i>Pranzo</i>	$3.0 \pm 3.6$	$2.4 \pm 3.2$	0.437
<i>Cena</i>	$2.8 \pm 3.7$	$1.2 \pm 2.3$	0.001

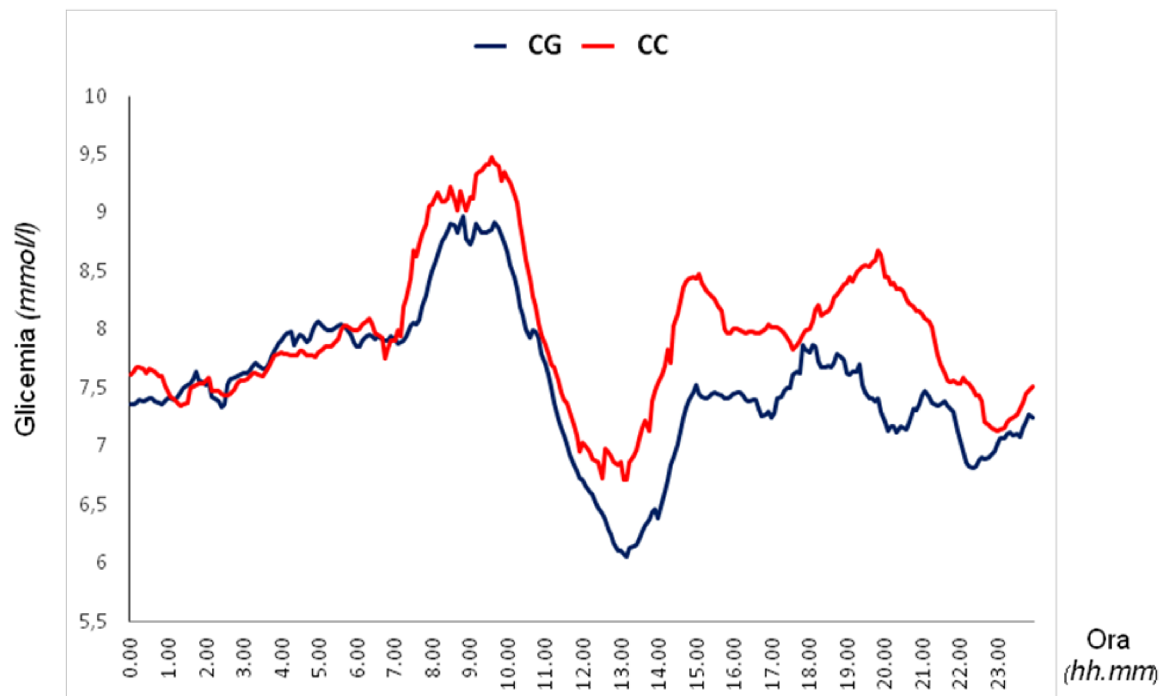
(M $\pm$ DS)

CG, periodo carico glicemico; CC, periodo conteggio dei carboidrati.

### *Glicemia*

La risposta glicemica postprandiale è risultata più favorevole durante il periodo CG rispetto al periodo CC. Come si osserva in figura 2, la glicemia si è mantenuta costantemente più bassa durante l'utilizzo del CG dopo colazione, pranzo e cena.

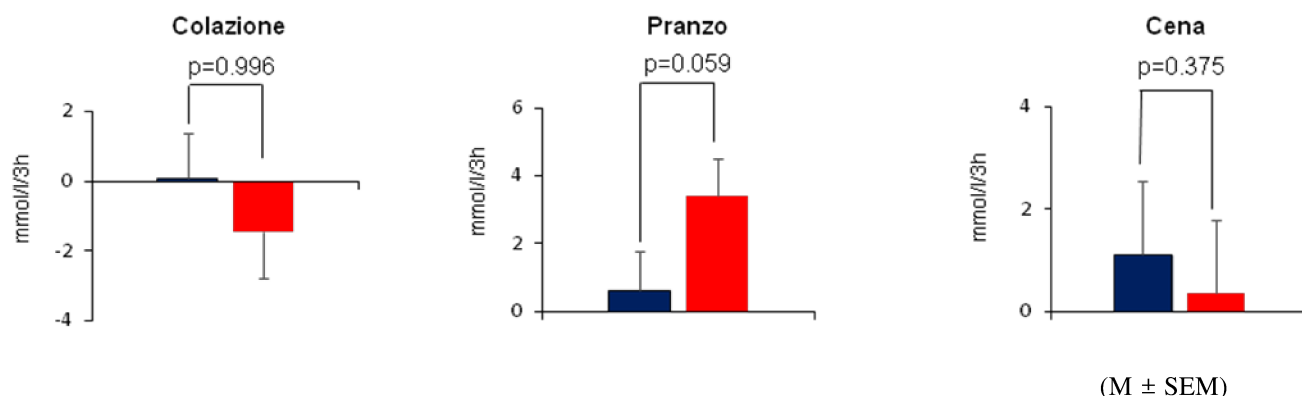
**Figura 2. Profilo glicemico medio giornaliero di tutti i soggetti durante l'utilizzo del calcolo basato sul carico glicemico e quello basato sul conteggio dei carboidrati.**



CG: calcolo del carico glicemico (linea blu) e CC: calcolo del conteggio dei carboidrati (linea rossa).

L'area incrementale postprandiale iAUC non è stata significativamente diversa tra i due periodi CG e CC dopo colazione ( $0.1 \pm 9.3$  vs.  $-1.4 \pm 9.8$  mmol/l•3 h, rispettivamente,  $p = 0.375$ ) e dopo cena ( $1.3 \pm 10.4$  vs.  $0.3 \pm 9.3$  mmol/l•3 h, rispettivamente,  $p = 0.996$ ), mentre è stata più bassa, benché non statisticamente significativa, dopo pranzo durante il CG rispetto al periodo CC ( $0.6 \pm 8.6$  vs.  $3.4 \pm 8.2$  mmol/l•3 h, rispettivamente,  $p = 0.059$ ) (figura 3).

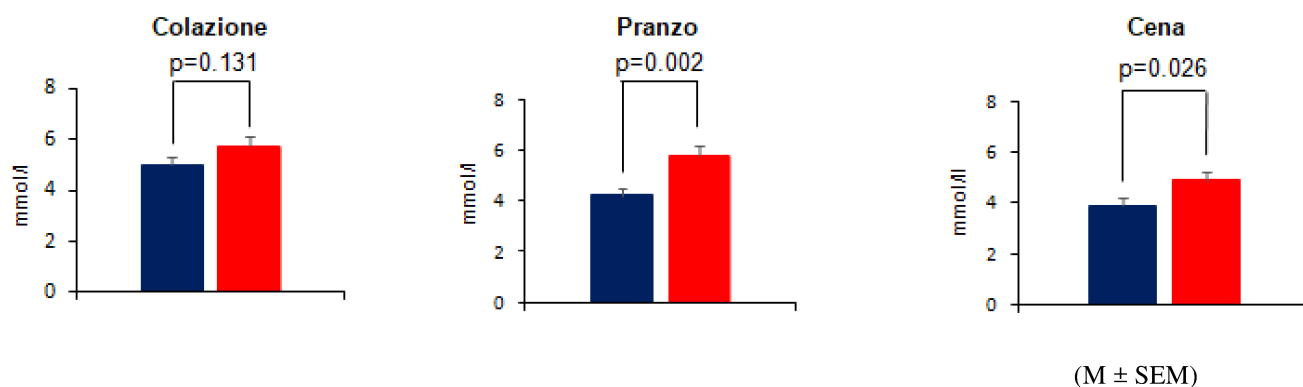
**Figura 3. Area incrementale postprandiale del glucosio (iAUC) durante i due periodi.**



Periodo CG: colonne blu; periodo CC: colonne rosse.

Come misura della variabilità glicemica postprandiale è stata considerata la massima ampiezza della glicemia postprandiale (differenza tra valori glicemici massimi e minimi registrati dal monitoraggio in continuo della glicemia durante le tre ore successive al pasto). La variabilità della glicemia postprandiale è stata significativamente più bassa durante il periodo CG rispetto al periodo CC sia a pranzo ( $4.22 \pm 0.28$  vs  $5.47 \pm 0.39$  mmol/l;  $p = 0.002$ ) che a cena ( $3.89 \pm 0.33$  vs  $4.89 \pm 0.33$ ;  $p = 0.026$ ) (figura 4).

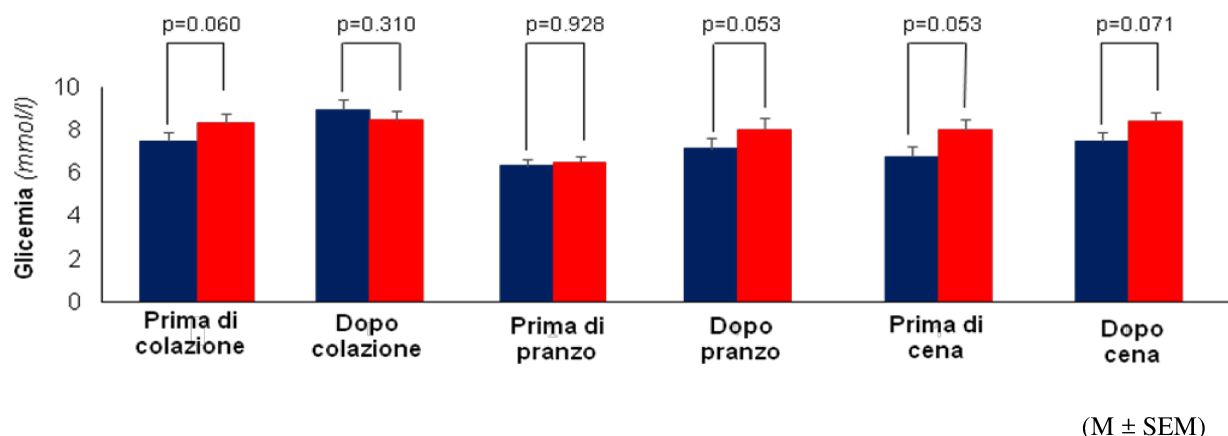
**Figura 4. Massima ampiezza delle escursioni glicemiche postprandiali valutate attraverso il monitoraggio in continuo della glicemia nei due periodi.**



Periodo CG: colonne blu; periodo CC: colonne rosse.

Le concentrazioni di glucosio capillare misurate con il refllettometro non hanno mostrato valori significativamente più bassi durante il periodo CG rispetto a quello CC (figura 5).

**Figura 5. Concentrazioni di glucosio capillare misurate con il refllettometro durante i due periodi.**



Periodo CG: colonne blu; periodo CC: colonne rosse.

#### *Numero di eventi ipoglicemici*

Non sono emerse differenze statisticamente significative nel numero totale di eventi ipoglicemici tra il periodo CG e quello CC (13 vs. 16,  $p=0.678$ ) e nel tempo trascorso al di sotto di 3.9 mmol/l dell'area sotto la curva ( $1.01 \pm 2.21$  vs.  $1.00 \pm 1.95$  ore/die;  $p = 0.947$ ). Il numero totale di eventi ipoglicemici postprandiali è stato di 2 e 1 dopo colazione, 3 e 4 dopo pranzo, 3 e 3 dopo cena, durante i periodi CG e CC, rispettivamente.

#### **Discussione e conclusioni**

Il nostro studio cross-over randomizzato ha dimostrato per la prima volta che è possibile calcolare le dosi pre-prandiali di insulina attraverso il carico glicemico, ovvero considerando sia la qualità che la quantità di carboidrati. Inoltre questo metodo è risultato fattibile in soggetti con diabete tipo 1 in trattamento con microinfusore di insulina. Infatti, utilizzando il rapporto insulina/carico glicemico in un contesto di vita reale si sono osservati effetti benefici sul controllo glicemico rispetto all'utilizzo del rapporto insulina/carboidrati.

Attualmente, il conteggio dei carboidrati è il metodo più utilizzato per il calcolo delle dosi prandiali di insulina nei pazienti con diabete tipo 1 [3]. Rappresenta però un aspetto critico

non solo la corretta identificazione degli alimenti contenenti carboidrati, ma anche la determinazione della quantità totale dei carboidrati presenti in una porzione di alimento.

In studi precedenti, è stata inoltre dimostrata l'ampia variabilità della risposta glicemica postprandiale determinata da diversi tipi di carboidrati [41,69,84-86].

Il rapporto insulina/carico glicemico confrontato con quello insulina/carboidrati determina una ridistribuzione delle dosi di insulina somministrate prima del pasto, i.e. un aumento della dose di insulina prima dei pasti ad alto indice glicemico e una riduzione della dose di insulina prima dei pasti a basso indice glicemico.

Di conseguenza, in questo studio, abbiamo osservato una differenza significativa nella distribuzione delle dosi di insulina senza differenze nelle dosi totali somministrate.

La diversa distribuzione delle dosi di insulina pre-pasto durante il periodo CG ha mostrato un impatto positivo anche se di lieve entità sul profilo glicemico postprandiale.

Questo è risultato evidente sia in termini di glicemia media, come mostrato da un miglioramento dei profili glicemici medi dopo pranzo, sia in termini di variabilità glicemica postprandiale, come mostrato da una significativa riduzione delle escursioni glicemiche postprandiali a pranzo e a cena durante il periodo insulina/carico glicemico.

In uno studio precedente, O' Connell et al. [87] hanno dimostrato che, in pazienti con diabete tipo 1 in trattamento con microinfusore di insulina, due pasti diversi solo per indice glicemico richiedevano una diversa distribuzione nel tempo della dose di insulina prandiale. In particolare, l'erogazione del bolo secondo la modalità ad onda doppia, riduceva la risposta glicemica postprandiale ed il rischio di ipoglicemia prima dei pasti a basso indice glicemico, mentre non migliorava la risposta glicemica postprandiale determinata da un pasto ad alto indice glicemico.

Questo suggerisce che, in aggiunta alla valutazione relativa alla distribuzione nel tempo, i pasti a basso indice glicemico richiederebbero una dose più bassa e quelli ad alto indice glicemico una dose più alta di insulina rispetto a quella calcolata con il conteggio dei carboidrati.

Basandoci su questi risultati, la somministrazione di insulina pre-prandiale dovrebbe considerare la composizione del pasto (in particolare la qualità dei carboidrati) e dovrebbe

adattarsi a tale composizione attraverso la possibilità di modificare i profili di erogazione della dose di insulina.

Il nostro studio presenta punti di forza e limitazioni. Sicuramente tra i punti di forza dobbiamo considerare l'utilizzo, per la prima volta in letteratura, del carico glicemico in soggetti con diabete tipo 1 per la determinazione della dose di insulina prandiale in un contesto di vita reale.

Inoltre, abbiamo dimostrato che il carico glicemico degli alimenti è anche un reale predittore della risposta glicemica postprandiale in soggetti con diabete mellito tipo 1.

Tra le limitazioni dobbiamo considerare la scarsa numerosità del campione che ha reso più difficile individuare marcate differenze in termini di efficacia tra l'utilizzo del metodo basato sul CG e quello basato sul CC. Ciononostante, sono state evidenziate differenze nel profilo glicemico.

E' importante inoltre ricordare che i partecipanti allo studio seguivano in generale una dieta salutare con un basso indice glicemico e una bassa quantità di grassi e di saturi. Le informazioni salutistiche che sottendono tali scelte alimentari sono state apprese durante la partecipazione ai corsi di educazione alimentare effettuati presso il nostro centro di cura.

Questo potrebbe aver reso più difficile riconoscere il vantaggio dell'utilizzo del carico glicemico rispetto al conteggio dei carboidrati. Al contrario, esso sarebbe stato più evidente se la dieta dei pazienti fosse stata caratterizzata da più ampie variazioni dell'indice glicemico dei pasti consumati.

Senza dubbio partecipare agli incontri di educazione alimentare, e affrontare varie tematiche nutrizionali, tra cui quella dell'indice glicemico, ha contribuito a promuovere scelte alimentari salutari.

Questo potrebbe essere inoltre un ulteriore vantaggio dell'utilizzo del carico glicemico, rappresentando un effettivo strumento di educazione non solo nella direzione del miglioramento del controllo glicemico, ma anche della riduzione del rischio cardiovascolare nei pazienti con diabete di tipo 1.

Inoltre, il conteggio basato sul carico glicemico si è dimostrato facile da eseguire e non ha richiesto maggiore impegno da parte del paziente rispetto al conteggio dei carboidrati.

Infatti, la sola differenza consiste nell'utilizzo di tabelle contenenti il valore di carico glicemico degli alimenti e non la quantità di carboidrati.

Grazie alle informazioni nutrizionali apprese durante i corsi di educazione alimentare, i partecipanti sono stati in grado di stimare il carico glicemico anche degli alimenti che non erano presenti nelle tabelle riferendosi al valore corrispondente all'alimento più simile riportato in tabella. Alcuni alimenti per i quali non è disponibile il valore di indice glicemico, e che non sono presenti nelle tabelle fornite ai partecipanti, costituiscono una eccezione rispetto agli alimenti consigliati dalle raccomandazioni nutrizionali; pertanto, la loro assenza rappresenterebbe un ulteriore messaggio educativo.

In conclusione, questo studio ha introdotto l'utilizzo del carico glicemico per la determinazione della dose di insulina preprandiale in pazienti con diabete tipo 1. Per l'utilizzo di questo strumento è necessario un percorso educativo specifico, che non è più complesso di quello necessario all'addestramento per l'utilizzo del conteggio dei carboidrati. È indispensabile, però, che esso sia inserito nell'ambito di un percorso nutrizionale globale volto all'implementazione di un'alimentazione corretta allo scopo di perseguire non solo un miglioramento del controllo glicemico, ma anche il raggiungimento e il mantenimento di un migliore stato di salute psicofisico e la riduzione del rischio cardiovascolare.

#### **5.2.1 Un percorso formativo per l'utilizzo del carico glicemico per la determinazione del bolo prandiale di insulina nei pazienti con diabete di tipo 1 (pubblicato su Giornale Italiano di Diabetologia e Metabolismo, 2017).**

##### **Background**

I carboidrati (CHO) della dieta giocano un ruolo determinante nella risposta glicemica postprandiale; pertanto, per la determinazione della dose di insulina prandiale i pazienti generalmente tengono in considerazione la quantità totale di CHO presenti nel pasto. Tra i diversi metodi proposti nel tempo per aiutare i pazienti a quantificare il contenuto in CHO degli alimenti, in un contesto di vita reale, il monitoraggio dei grammi totali di CHO, effettuato mediante le liste di scambio o conteggio dei CHO, rappresenta la strategia più

frequentemente utilizzata [16,17,90]. Tuttavia, come evidenziato anche in una recente metanalisi [81], applicare il conteggio dei CHO non si associa a miglioramenti statisticamente significativi del compenso glicemico rispetto agli approcci tradizionali più semplici (utilizzo della stessa quantità di insulina ai pasti, modifiche ripetute delle dosi di insulina preprandiali fino al raggiungimento di un buon compenso glicemico “trial and error”). Ciò è legato alle molteplici limitazioni del conteggio dei CHO [69], prima tra tutte il fatto che questa metodologia tiene conto solo del contenuto in CHO del pasto e trascura il diverso effetto che i diversi tipi di CHO possono esercitare sulla risposta glicemica postprandiale. Da un punto di vista biochimico, i CHO costituiscono una famiglia molto eterogenea, differenziandosi per 1) tipo di amido (diverso contenuto in amilosio e amilopectina), 2) presenza di fibre, 3) presenza di antinutrienti (fitati) o di fruttoligosaccaridi [37]. Pertanto, gli alimenti che li contengono si differenziano, anche per la loro modalità di preparazione, in termini di velocità di digestione e di assorbimento, con conseguenti differenti effetti sulla risposta glicemica. Queste differenze hanno portato alla definizione del concetto di indice glicemico degli alimenti, che si esprime come rapporto percentuale tra la risposta glicemica a un determinato alimento e la risposta glicemica della stessa quantità di CHO contenuti in un alimento di riferimento (pane o glucosio) [91]. Ciò ha una diretta corrispondenza clinica, come osservato in pazienti con diabete di tipo 1 in terapia con microinfusore, nei quali un pasto ricco in CHO a più alto indice glicemico produce un’ aumentata risposta glicemica postprandiale rispetto a un pasto a più basso indice glicemico ma con lo stesso contenuto di CHO [69]. Un parametro che tiene conto sia della quantità dei CHO sia della loro diversa qualità è il carico glicemico (CG), che si ottiene moltiplicando la quantità di CHO di un alimento per il suo indice glicemico diviso 100 [49]. La possibilità di utilizzare il CG come strumento capace di prevedere la risposta glicemica e insulinemica determinata da un alimento è stata innanzitutto validata in giovani

adulti sani, nei quali il CG è stato in grado di predire in maniera più accurata la risposta glicemica e insulinemica rispetto alla sola quantità di CHO [41]. Di recente, in uno studio controllato in un contesto di vita reale in pazienti con diabete di tipo 1 in trattamento con microinfusore, abbiamo osservato che l’ utilizzo del CG per la determinazione del bolo



insulinico prandiale ha determinato una risposta glicemica postprandiale più favorevole con una variabilità glicemica significativamente minore rispetto all'utilizzo del conteggio dei CHO [70]. Nel nostro centro di cura del diabete, l'utilizzo del CG per la determinazione del bolo insulinico preprandiale fa parte di un percorso educativo effettuato da un team di dietisti, nutrizionisti e medici diabetologi.

### **Finalità del progetto**

L'obiettivo del presente lavoro è quello di descrivere il metodo e il percorso formativo utilizzati presso il nostro centro per il calcolo delle dosi prandiali di insulina sulla base del CG del pasto in pazienti con diabete mellito di tipo 1.

### **Metodi**

*Obiettivi del corso di addestramento all'utilizzo del carico glicemico.*

Gli obiettivi generali del corso sono:

- Conoscere i principi di una sana e corretta alimentazione nella cura del diabete e nella prevenzione del bolo insulinico
- Calcolare il bolo insulinico prandiale sulla base del carico glicemico degli alimenti consumati.

L'obiettivo del corso è promuovere una maggiore consapevolezza delle caratteristiche della propria alimentazione acquisendo corrette abitudini alimentari, aumentando la capacità di autogestione della terapia insulinica sulla base dell'alimentazione seguita e fornendo informazioni teoriche che possano essere applicate praticamente nel proprio contesto di vita quotidiana. Al termine del percorso formativo, ciascun partecipante dovrebbe essere in grado di utilizzare il CG degli alimenti consumati per determinare il bolo insulinico preprandiale. Per raggiungere gli obiettivi prefissati è necessario strutturare un percorso educativo che permetta di far apprendere ai pazienti le nozioni e le abilità necessarie per gestire in modo più consapevole la propria dieta attraverso un'appropriata e continuativa educazione.

## **Struttura del corso**

Il percorso teorico-pratico è caratterizzato da 4 incontri a cadenza settimanale della durata di circa 2 ore ciascuno. Considerata la partecipazione attiva dei pazienti, ogni corso è rivolto a gruppi di 8-10 persone, preferibilmente omogenei per età, livello culturale, utilizzo o meno di microinfusore. Ogni incontro prevede una parte teorica, che si svolge in un'aula mediante supporti audiovisivi, e un'applicazione pratica delle nozioni teoriche, generalmente in piccoli sottogruppi, in una cucina metabolica adeguatamente attrezzata. Sia durante la parte teorica che quella pratica, viene favorito lo scambio di informazioni e di esperienze tra i pazienti nel gruppo, ma anche la riflessione, la capacità di decisione e la risoluzione di problemi. Per lo svolgimento del corso, oltre all'utilizzo del videoproiettore e materiale cartaceo, vengono utilizzati alimenti naturali, riproduzioni in plastica degli alimenti a dimensione reale, bilance pesa alimenti, misuratori per liquidi, tazze, bicchieri e altri strumenti di uso comune. Ciascun incontro ha obiettivi specifici.

### ***1° INCONTRO***

Obiettivi dell'incontro:

- 1) apprendere il ruolo di CHO, lipidi, proteine e alcol sul metabolismo glicidico e più in generale sullo stato di salute dell'organismo;
- 2) identificare gli alimenti contenenti CHO;
- 3) nell'ambito di quelli ricchi in CHO, saper distinguere gli alimenti ad alto e a basso indice glicemico;
- 4) saper compilare correttamente un diario alimentare.

Nel corso dell'incontro viene chiarito innanzitutto l'obiettivo dell'intero percorso educativo puntualizzando l'importanza della sana alimentazione nella cura del diabete e nella prevenzione delle sue complicanze. Poi si descrivono le varie fasi della digestione degli alimenti e dell'assorbimento dei nutrienti. Per ciascun nutriente si mostrano l'apporto energetico, il fabbisogno giornaliero e le fonti alimentari. Si illustrano le funzioni e la classificazione di proteine, grassi e CHO. Per quanto riguarda le proteine si spiega l'importanza di preferire quelle di origine vegetale a quelle di origine animale focalizzando l'attenzione sul rispettivo contenuto in aminoacidi essenziali. Si forniscono alcuni esempi

per chiarire il concetto della complementarietà aminoacidica delle proteine e il loro valore biologico. Riguardo ai grassi, partendo dalla loro classificazione chimica, si passa a descrivere l'effetto dei diversi acidi grassi (saturi, insaturi e trans) sul rischio cardiovascolare. Per ciascun tipo si individuano le fonti alimentari e, in particolare per gli acidi grassi saturi e trans, le strategie per ridurre l'assunzione. Per gestire adeguatamente la terapia insulinica è importante che i pazienti sappiano riconoscere gli alimenti che contengono CHO in quanto principali determinanti dell'andamento glicemico postprandiale. Dall'esperienza maturata dalla conduzione di incontri di educazione alimentare sia di gruppo sia individuali, rivolti a pazienti con diabete, è spesso emersa la difficoltà da parte dei pazienti di saper distinguere correttamente gli alimenti contenenti CHO da quelli che ne sono privi. Risultano di facile individuazione pasta, pane, cereali e tuberi mentre altre categorie di alimenti non vengono prese in considerazione: bevande zuccherate, dolci, prodotti impanati, latte e frutta. Nella parte pratica, ai pazienti è chiesto inizialmente di separare gli alimenti ricchi in CHO da quelli che ne sono poveri scegliendo all'interno di un cesto contenente riproduzioni in plastica degli alimenti a dimensione reale. Per rendere facilmente comprensibile il concetto in base al quale gli alimenti contenenti CHO si differenziano per la loro diversa velocità di assorbimento (a rapido e a lento assorbimento), si mostrano grafici che evidenziano la risposta glicemica dopo l'assunzione di porzioni di alimenti con uguale contenuto in CHO e diverso indice glicemico (per es., glucosio, succhi di frutta, pasta, pane, legumi e patate).

Si introducono alcuni dei numerosi fattori in grado di influenzare la risposta glicemica, tra cui la presenza di altri nutrienti (proteine e grassi), lo stato fisico dell'alimento (crudo o cotto), il metodo di cottura e la presenza di fibra vegetale. Successivamente, in una seconda attività pratica, è chiesto ai partecipanti di distinguere, nell'ambito degli alimenti ricchi in CHO, quelli ad alto e a basso indice glicemico. Al termine, si consegna a ciascun partecipante un diario alimentare da compilare specificando l'importanza di riportare oltre agli alimenti e alle bevande consumati anche il peso, il nome commerciale, lo stato fisico (cioè se crudi, cotti, freschi, secchi, surgelati, in scatola ecc.) e l'elenco degli ingredienti dei piatti elaborati.

## **2° INCONTRO**

Obiettivi dell'incontro:

- 1) apprendere le diverse metodologie di stima della porzione di alimento abitualmente consumata a colazione, pranzo e cena;
- 2) apprendere il concetto di CG;
- 3) saper calcolare il CG in relazione ai pasti.

Durante l'incontro si proiettano i diari alimentari compilati dai pazienti e si discutono in gruppo. Innanzitutto, si verifica la corretta compilazione dei diari alimentari (qualità e quantità degli alimenti consumati, registrazione della glicemia pre- e postprandiale e unità di insulina effettuate). Per quanto riguarda le abilità da acquisire è necessario che i pazienti sappiano identificare la porzione consumata che è indispensabile per poter calcolare correttamente il relativo CG. Al fine di fornire strumenti utili alla corretta stima della porzione di alimenti, diversi dalla bilancia, si mostrano alcune porzioni prestabilite di alimenti (cereali da colazione, pasta corta e lunga, cruda e cotta, riso, legumi, vari formati di frutta e pane) e a ogni partecipante viene chiesto di stimarne visivamente la porzione in grammi e poi di verificarle con la bilancia pesa-alimento; si propongono metodiche pratiche alternative all'utilizzo della bilancia per quantificare le porzioni (piatto fondo, cucchiaino, mestolo, tazza, bicchiere ecc.). A differenza della stima del peso riferita agli alimenti consumati a colazione, la difficoltà relativa a quelli comunemente consumati a pranzo e cena consiste soprattutto nell'individuare la corretta variazione in peso degli alimenti da crudo a cotto. Per affrontare questa criticità, dopo aver determinato la stima del peso degli alimenti a crudo, i pazienti partecipano direttamente alla preparazione delle pietanze e osservano in tempo reale le variazioni in peso dopo la cottura. Al termine della parte pratica si introduce il concetto di CG. Il CG è ottenuto moltiplicando l'indice glicemico per la quantità di CHO, espressa in grammi, presente nell'alimento. Per ciascun alimento è stato considerato il valore medio di indice glicemico riportato dai diversi studi [21,92]. La quantità di CHO è derivata dalle tabelle di composizione degli alimenti dell'Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione [72]. Si procede con i partecipanti al calcolo del CG di alcune porzioni di alimenti, utilizzando i valori riportati nelle liste contenenti il CG degli alimenti più comunemente consumati (Appendice). Al

termine dell'incontro, queste liste vengono consegnate a ciascun partecipante. Le liste riportano tre colonne in corrispondenza di ciascun alimento: una indica il carico glicemico per 100 g di alimento, le altre due, da compilare a cura del partecipante, si riferiscono ai grammi e al carico glicemico della porzione di alimento abitualmente consumata da ciascun paziente. L'utilità di queste ultime colonne consiste nella possibilità di registrare il carico glicemico degli alimenti che il paziente consuma, che, con un certo grado di approssimazione, sono abbastanza riproducibili per lo stesso paziente (es. cereali da colazione, porzione di yogurt ecc.) e, pertanto, agevolano i calcoli. A ciascun partecipante viene consegnato anche un diario alimentare da compilare specificando l'importanza di riportare oltre agli alimenti e alle bevande consumati anche il CG calcolato con le apposite liste, le glicemie pre- e postprandiali e le dosi di insulina praticate. Nei due giorni precedenti il successivo incontro i partecipanti inviano i propri diari compilati al team nutrizionale che, dopo aver verificato la correttezza della compilazione e dei calcoli relativi al CG dei pasti consumati da ciascun partecipante, raccoglie le informazioni necessarie a calcolare i rapporti insulina/CG (Ins/CG).

### **3° INCONTRO**

Obiettivi dell'incontro: verificare la capacità dei partecipanti di

- 1) calcolare il CG dei pasti consumati;
- 2) applicare il rapporto Ins/CG calcolato dal team nutrizionale;
- 3) adeguare la dose di insulina preprandiale al loro rapporto Ins/CG.

Anche in questo incontro si procede con la discussione critica dei diari alimentari compilati dai partecipanti ponendo particolare attenzione alla correttezza e appropriatezza dei calcoli riferiti al CG delle porzioni di alimento consumate ai pasti. Successivamente, si procede alla consegna dei rapporti Ins/CG personalizzati, individuati precedentemente dal team nutrizionale sulla base delle informazioni acquisite dai diari alimentari prodotti nei due incontri precedenti contenenti anche i valori glicemici (prima e 2 ore dopo i pasti) e le unità di insulina effettuate. È previsto, inoltre, l'addestramento all'applicazione del proprio rapporto Ins/CG e relativo adeguamento del bolo insulinico preprandiale. La procedura adottata per la determinazione del rapporto Ins/CG è la seguente:

- 1) vengono presi in considerazione (per ciascun diario) solo i pasti in cui sia la glicemia preprandiale sia quella postprandiale rientrano nei target glicemici (glicemia preprandiale compresa tra 80-120 mg/dl e quella postprandiale tra 120 e 160 mg/dl);
- 2) si calcola il CG del pasto (sommando i valori di CG dei singoli alimenti che compongono il pasto) e lo si divide per le unità di insulina effettuate;
- 3) la media dei rapporti ottenuti per i pasti valutabili costituisce il rapporto Ins/CG da utilizzare;
- 4) il calcolo del rapporto Ins/CG viene effettuato separatamente per colazione, pranzo e cena. Un esempio di calcolo è riportato nella tabella 7. Al termine dell'incontro ciascun paziente riceve l'indicazione relativa al proprio rapporto Ins/CG da applicare differenziato per colazione, pranzo e cena. Sulla base del CG del pasto andrà adeguata la quantità di insulina da somministrare. Anche in questo caso viene consegnato un diario alimentare che, oltre alle informazioni precedentemente richieste, dovrà mostrare anche la corretta applicazione del rapporto Ins/CG.

**Tabella 7. Esempio di calcolo del rapporto Ins/CG sulla base del diario alimentare.**

Pasto: pranzo		Orario: 13.30	
Glicemia a digiuno: 96	Unità insulina: 8	Glicemia dopo 2 ore: 148	
Alimenti consumati		Quantità (g)	Carico glicemico
Pasta di semola		50	18,5
Legumi secchi: lenticchie		80	12,8
Pane integrale		60	21,6
Pomodori all'insalata		150	Trascurabile
Olio extra vergine di oliva		20	0
Frutta: pera		180	7,2
Carico glicemico del pasto = 60,1			

Il carico glicemico complessivo del pasto si ottiene sommando i singoli valori di carico glicemico riportati per i diversi alimenti. Dividendo questo valore per le unità di insulina effettuate per quel pasto ( $60 \text{ CG} / 8 \text{ UI} = 7,5$ ) si ottiene il rapporto Ins/CG, cioè una UI di insulina ogni 7,5 unità di carico glicemico.

N.B. Il rapporto Ins/CG consigliato è il valore medio ottenuto da tutti i pasti disponibili nei diari alimentari.

#### **4° INCONTRO**

Obiettivi dell'incontro: acquisire

- 1) la capacità di verificare l'appropriatezza del rapporto Ins/CG consigliato;
- 2) la capacità di modificarlo in base alla risposta glicemica;
- 3) le abilità relative all'utilizzo del suggeritore di boli.

L'ultimo incontro inizia con la discussione critica del diario alimentare di ciascun paziente e in particolare con la verifica delle dosi di insulina somministrate sulla base del rapporto Ins/CG. Si introducono i concetti relativi ai parametri necessari per impostare e ottenere un "suggerimento di bolo" con esercitazioni pratiche sul suo utilizzo. Tali parametri, da impostare nel software del microinfusore, differiscono da persona a persona e riguardano: rapporto Ins/CG (quante unità di CG sono "smaltite" da 1 unità di insulina), sensibilità insulinica (quanti mg/dl di glucosio sono metabolizzati da 1 unità di insulina), target glicemico (l'obiettivo glicemico pre- e postprandiale) e l'insulina attiva (unità di insulina residua attiva in circolo). A conclusione del corso di addestramento viene consegnato a ogni partecipante un opuscolo con i contenuti trattati durante il corso di addestramento e vengono pianificati incontri di follow-up a 4 mesi e a 12 mesi dalla fine del corso per verificare le competenze acquisite ed eventuali difficoltà riscontrate.

#### **Discussione**

Diverse sono le metodiche utilizzate dai pazienti con diabete, in particolare con diabete di tipo 1, per calcolare la dose di insulina prandiale. Tra queste, il conteggio dei CHO rappresenta la metodica più utilizzata, anche se essa non sembra garantire un controllo glicemico ottimale per le sue molteplici limitazioni [81]. Uno dei limiti di questa metodologia consiste nel fatto che essa tiene conto solo della quantità dei CHO assunti con la dieta e non della loro diversa qualità. Pertanto, l'utilizzo del CG, che tiene conto sia della quantità in grammi di CHO presenti nell'alimento sia del relativo indice glicemico, può rappresentare una metodica più adeguata. Recentemente, abbiamo dimostrato la fattibilità dell'utilizzo del CG in pazienti con diabete di tipo 1 in un contesto di vita reale e abbiamo osservato un miglioramento del compenso glicemico postprandiale rispetto all'utilizzo del conteggio dei CHO [70]. In questo lavoro abbiamo riportato il percorso

educativo finalizzato all'utilizzo del CG per la determinazione del bolo prandiale di insulina seguito presso il nostro centro. Tale percorso si inserisce in un corso volto alla conoscenza e all'implementazione di un'alimentazione corretta nel suo insieme. Infatti, il corso di addestramento all'utilizzo del CG, affrontando tutti gli aspetti riguardanti le proprietà e le funzioni dei macronutrienti, fornisce al paziente gli strumenti necessari per valutare ogni alimento nella sua complessità. Inoltre, l'enfaticizzazione del ruolo dell'indice glicemico contribuisce a promuovere scelte alimentari salutari, non solo nella direzione del miglioramento del controllo glicemico, ma anche della riduzione del rischio cardiovascolare nei pazienti con diabete di tipo 1. Un'altra caratteristica importante di questo percorso educativo è rappresentata dall'utilizzo del diario alimentare compilato dai pazienti come strumento utile per la personalizzazione del rapporto Ins/CG e non l'utilizzo di formule empiriche standardizzate (per es., regola del 500) come avviene per la determinazione del rapporto Ins/CHO [32]. La compilazione dei diari alimentari e la loro attenta valutazione rappresenta anche un mezzo molto utile per migliorare l'adesione dei pazienti a una corretta alimentazione [93]. Bisogna sottolineare che i calcoli che sottendono i due metodi (conteggio dei CHO e conteggio del CG) non differiscono tra loro. L'unica differenza consiste nell'utilizzare in un caso la quantità dei CHO totali contenuta nell'alimento, mentre nell'altro le unità di CG. In entrambi i casi, i calcoli permettono di adattare i valori riferiti a 100 g di alimento alla porzione consumata. Pertanto, l'utilizzo del

CG non prevede maggiore impegno da parte del paziente e non richiede capacità di calcolo più avanzate, rispetto all'utilizzo del conteggio dei CHO. Sempre da un punto di vista di educazione nutrizionale, un'altra caratteristica è legata all'acquisizione di abilità anche nello stimare correttamente le porzioni consumate.

In questo corso, tale abilità si sviluppa attraverso la partecipazione attiva a sessioni pratiche svolte all'interno di una cucina metabolica attrezzata dove ciascun partecipante può autonomamente preparare le pietanze. Un limite all'utilizzo del CG nella vita quotidiana è rappresentato dalla difficoltà da parte del paziente nel reperire il valore di CG degli alimenti che non sono presenti nelle liste fornite in quanto, a differenza del contenuto in CHO, esso non è riportato sulle etichette nutrizionali. In tal caso viene consigliato di



considerare l'alimento con la composizione nutrizionale più simile a quello presente nelle liste fornite.

Vi sono limiti intrinseci alla determinazione dell'indice glicemico degli alimenti. Gli indici glicemici riportati in letteratura variano, anche notevolmente, tra i diversi studi in relazione a diversità di composizione degli alimenti in aree geografiche differenti e a diversità nelle popolazioni studiate. Pertanto, è importante utilizzare il più possibile valori di indice glicemico derivati da studi con alimenti simili a quelli di uso più comune nella propria realtà territoriale e in soggetti con caratteristiche simili a quelli nei quali essi sono utilizzati. Va considerato che il calcolo basato sul conteggio del CG non tiene conto degli effetti sulla risposta glicemica degli altri alimenti del pasto non contenenti CHO, in particolare grassi e proteine. Tener conto anche di questi nutrienti richiederà algoritmi certamente più complessi e ancora non disponibili. In conclusione, l'utilizzo del CG per la determinazione del bolo prandiale di insulina sembra essere, sulla base dei dati prodotti dal nostro gruppo, più utile rispetto al calcolo basato sul conteggio dei CHO nel migliorare la risposta glicemica postprandiale in pazienti con diabete di tipo 1. Per l'utilizzo di questo strumento è necessario un percorso educativo specifico, che non è più complesso di quello necessario per il conteggio dei CHO. È indispensabile, però, che esso sia inserito nell'ambito di un percorso nutrizionale globale volto all'implementazione di un'alimentazione corretta allo scopo di perseguire non solo un migliore controllo glicemico, ma anche il raggiungimento e il mantenimento di un migliore stato di salute psicofisico e la riduzione del rischio cardiovascolare.

### **5.3 L'olio extra vergine di oliva riduce la risposta glicemica a pasti ad alto indice glicemico in soggetti con diabete tipo 1 (pubblicato su Diabetes Care, 2016).**

#### **Background**

La risposta glicemica postprandiale è un importante determinante del controllo glicemico in soggetti con diabete mellito tipo 1. I carboidrati sono considerati il principale fattore in grado di influenzare la glicemia postprandiale; le attuali linee guida raccomandano pertanto, di calcolare le dosi di insulina preprandiale sulla base della quantità totale dei carboidrati del pasto [3]. Purtroppo, il conteggio dei carboidrati, può non favorire il raggiungimento di un buon compenso glicemico, nonostante venga adeguatamente utilizzato da parte dei pazienti, a causa di diversi fattori [81].

E' ormai noto che oltre alla quantità di carboidrati, il tipo di alimento consumato, il relativo contenuto in fibra e/o l'indice glicemico, influenzano la risposta glicemica postprandiale [41,69].

In uno studio recentemente pubblicato, abbiamo dimostrato, in un contesto di vita reale, che il calcolo della dose pre-prandiale di insulina basato sul calcolo del carico glicemico, tenendo cioè in considerazione sia la quantità che la qualità dei carboidrati, migliora il profilo glicemico giornaliero rispetto al calcolo basato sul conteggio dei carboidrati [70]. Poiché i pazienti con DM1, non assumono carboidrati tal quali ma consumano pasti all'interno dei quali ci sono anche gli altri macronutrienti, diventa importante valutare il possibile impatto dei grassi e delle proteine sulla risposta glicemica postprandiale.

In particolare, i grassi, presenti in un pasto determinano una risposta glicemica postprandiale maggiore e prolungata nel tempo rispetto ai carboidrati [56,59-61,94,95].

Wolpert et al., secondo un disegno di studio cross-over randomizzato, hanno esplorato la relazione tra gli altri macronutrienti e la risposta glicemica postprandiale, in particolare quella determinata dai grassi [60]. Sfruttando infatti un sistema ad ansa chiusa, sono stati confrontati gli effetti sulla risposta glicemica postprandiale di due pasti, uno ad alto contenuto in grassi, l'altro a ridotto contenuto, caratterizzati dalla stessa quantità in carboidrati. Il pasto contenente una maggiore quantità di grassi ha determinato una risposta glicemica postprandiale maggiore rispetto al pasto a ridotto contenuto in grassi. Inoltre, l'aggiunta di grassi ad un pasto, incrementa il fabbisogno di insulina in soggetti con DM1.

Di conseguenza, sono stati proposti algoritmi per il calcolo delle dosi preprandiali di insulina che considerassero anche la presenza delle altre componenti del pasto [96,97].

Comunque, il fatto che i grassi inducono un aumento della risposta glicemica postprandiale, sembrerebbe essere in contrasto con i dati che dimostrano che essi ritardano lo svuotamento gastrico e quindi potrebbero indurre una ridotta risposta glicemica postprandiale in fase precoce; inoltre, alcuni alimenti ricchi in carboidrati hanno un basso indice glicemico quando ricchi anche in grassi [21]. Pertanto, anche la qualità dei grassi potrebbe svolgere un ruolo significativo nella modulazione della risposta glicemica postprandiale così come per i carboidrati. Ci sono anche dei dati in letteratura che indicano che gli acidi grassi saturi possono peggiorare la sensibilità insulinica e rallentare lo svuotamento gastrico, mentre gli acidi grassi monoinsaturi (MUFA) possono migliorare la sensibilità all'insulina, e stimolare la secrezione del GLP-1; questo potrebbe spiegare il possibile diverso effetto degli acidi grassi saturi rispetto ai monoinsaturi sulla risposta glicemica postprandiale [62,98-101].

**Scopo:** Valutare l'impatto della diversa qualità di grassi e carboidrati di un pasto sulla risposta glicemica postprandiale.

### **Materiali e metodi:**

*Partecipanti:* tredici pazienti con diabete di tipo 1 (8 donne e 5 uomini) sono stati reclutati presso l'ambulatorio del Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia dell'Università Federico II di Napoli dopo aver sottoscritto il consenso informato alla partecipazione allo studio. I criteri di inclusione sono stati il trattamento con microinfusore di insulina, l'utilizzo di analoghi di insulina ad azione rapida da almeno 6 mesi, valori di HbA1c < 8,0% (64 mmol/mol). I criteri di esclusione sono stati gravidanza, malattia celiaca, complicanze micro e macrovascolari inclusa la neuropatia autonoma (che può influenzare lo svuotamento gastrico), e qualsiasi altra malattia cronica o acuta a parte il diabete.

I pazienti che rientravano nei criteri di inclusione sono stati invitati a partecipare allo studio durante le loro regolari visite ambulatoriali durante le quali è stato possibile verificare il grado di compliance e spiegare il disegno dello studio.

Il protocollo sperimentale è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II" e registrato su ClinicalTrials.gov, numero identificativo NCT02330939.

### **Disegno dello studio**

La fase di intervento dello studio è stata preceduta da una settimana di osservazione (run-in) durante la quale ciascun partecipante ha effettuato il monitoraggio in continuo della glicemia ed ha compilato un diario alimentare di 7 giorni in maniera dettagliata, allo scopo di ottimizzare la dose basale di insulina e calcolare il rapporto insulina/carico glicemico.

Lo studio è stato condotto secondo un disegno cross-over randomizzato, pertanto, i partecipanti sono stati assegnati, in maniera casuale, ad una prima settimana in cui hanno consumato 3 pasti ad alto indice glicemico (AIG) oppure 3 pasti a basso indice glicemico (BIG), per poi proseguire durante la settimana successiva con l'altro trattamento. Nell'ambito di ciascuna serie, l'ordine di consumo dei pasti è stato effettuato in maniera random.

In particolare, i pasti erano sovrapponibili tra loro per contenuto di carboidrati, ma differivano per quantità e qualità di grassi: 1) pasto ad elevato contenuto in acidi grassi monoinsaturi (olio extra vergine di oliva) (EVOO), 2) pasto ad elevato contenuto in acidi grassi saturi (Burro) e 3) pasto povero in grassi (PG) (tabella 8).

**Tabella 8. Apporto energetico e composizione in macronutrienti dei pasti sperimentali.**

	Pasti AIG			Pasti BIG		
	EVOO	Burro	PG	EVOO	Burro	PG
Energia (kcal)	988	982	721	987	996	726
Carboidrati (g)	131	131	130	130	131	131
Grassi totali (g)	40.5	39.4	10.6	39.8	40.4	10.8
AGS (g)	6.5	22.1	2.2	5.9	22.6	1.7
AGM (g)	27.9	11.1	6.0	27.6	11.2	6.4
AGP (g)	3.7	2.2	1.5	4.0	2.4	1.8
Proteine (g)	33.9	34.2	33.9	35.1	35.4	35.1
Fibre (g)	7.7	7.8	8.4	20.8	20.8	20.8
Indice Glicemico (%)	65.5	65.5	66.2	41.1	41.1	41.1

AGS:acidi grassi saturi; AGM: acidi grassi monoinsaturi; AGP: acidi grassi polinsaturi

Durante i due periodi sperimentali, i partecipanti hanno continuato ad effettuare il monitoraggio in continuo della glicemia. Inoltre, per poter ottenere un livello adeguato di affidabilità dei risultati, è chiesto ai partecipanti di calibrare lo strumento 3 volte al giorno attraverso il sangue capillare utilizzato per la determinazione della glicemia pre-prandiale.

Durante le due settimane di intervento, il pasto test è stato consumato tra il 2° ed il 7° giorno di attivazione del sensore. Inoltre, è stato raccomandato di misurare la glicemia 2,4 e 6 ore dopo il consumo del pasto test.

I pasti sperimentali sono stati preparati sotto la supervisione di un nutrizionista e successivamente surgelati. Ciascun partecipante riceveva i pasti da consumare surgelati in borse frigo dedicate e veniva istruito in merito alle modalità standardizzate da seguire per scongelare il pasto evitando di alterare la struttura fisica dell'alimento (causata ad esempio dallo scongelamento in microonde) [102].

Il pasto doveva essere consumato a pranzo. In accordo al disegno di studio cross-over, i tre giorni a settimana da utilizzare per consumare i pasti sperimentali dovevano essere simili per attività lavorative e ricreative svolte. Le stesse attività dovevano essere riprodotte in entrambe le settimane sperimentali (AIG e BIG). Qualora la glicemia non fosse entro il range di 5-8 mmol/L, e non fosse stabile (3.3 mmol/L) durante gli ultimi 60 minuti (verificabile attraverso il sistema di monitoraggio in continuo della glicemia), il consumo del pasto test doveva essere posticipato. Per limitare possibili bias, è stato chiesto a ciascun

partecipante di consumare a colazione gli stessi alimenti durante i giorni individuati per il consumo dei pasti sperimentali e di evitare di praticare attività fisica intensa sia il giorno prima sia la mattina del giorno dedicato al consumo del pasto test. E' stato inoltre consigliato di evitare di praticare attività fisica (anche se lieve o moderata) durante le 6 ore successive al consumo del pasto sperimentale.

Per migliorare la compliance al protocollo di studio, i partecipanti mantenevano frequenti contatti telefonici con gli operatori, in particolare prima e 6 ore dopo il pasto.

La dose di insulina pre-prandiale, somministrata poco prima del consumo del pasto, è stata calcolata sulla base del rapporto insulina/carico glicemico di ciascun partecipante. Il rapporto insulina/carico glicemico è stato determinato durante il precedente percorso di addestramento all'utilizzo del carico glicemico svolto presso il nostro centro di cura. Per ciascun soggetto, la dose di insulina da praticare è stata la stessa nell'ambito dei tre pasti (EVOO, Burro e PG) ma differiva tra le due serie (AIG e BIG).

#### *Composizione dei pasti sperimentali:*

Il pasto EVOO ed il pasto Burro fornivano lo stesso apporto energetico; al contrario il pasto a ridotto contenuto in grassi (PG) si caratterizzava per un apporto energetico inferiore, dovuto esclusivamente al ridotto contenuto in grassi. I pasti che appartenevano alla serie AIG e BIG si caratterizzavano per la stessa quantità di carboidrati e proteine ma differivano per indice glicemico (circa di 25 unità) e per l'apporto di fibra (circa di 13 grammi). La quantità e la qualità dei grassi non differiva tra le due serie (AIG o BIG) ma variava in base alla tipologia di pasto (EVOO, Burro e PG) (tabella 9).

I pasti ad alto indice glicemico (AIG) erano costituiti da riso brillato (60 g), pane bianco (75 g), carne di manzo tritata (90 g), e banana (180 g) più burro (43 g) o olio di oliva extra vergine (37 g), con 8 g di olio extra vergine di oliva nel pasto a ridotto contenuto in grassi. I pasti a basso indice glicemico (BIG) erano formati da pasta di semola (50 g), lenticchie (100 g), pane integrale (30 g), prosciutto crudo magro (15 g), mela (185 g) più burro (45 g) o olio di oliva extra vergine (37 g), con 8 g di olio extra vergine di oliva nel pasto a ridotto contenuto in grassi. Sia la quantità di burro che di olio extra vergine è stata

aggiunta al pasto poco prima del surgelamento. La mela e la banana dovevano essere consumate fresche e la quantità da consumare si riferiva al peso netto privato dello scarto.

*Metodi e procedure di laboratorio:*

Per il monitoraggio in continuo della glicemia, 8 partecipanti hanno utilizzato i sensori Enlite Medtronic, mentre 5 partecipanti i sensori G4 Dexcom. Al termine delle due settimane sperimentali, i dati registrati attraverso il sistema di monitoraggio in continuo ed attraverso il microinfusore di insulina sono stati scaricati attraverso software dedicati. I soggetti arruolati hanno utilizzato il sistema di monitoraggio della glicemia integrato con il microinfusore di insulina, ed erano stati precedentemente addestrati al suo utilizzo.

Inoltre, il disegno di studio cross-over ha limitato i possibili bias derivanti dall'utilizzo delle due tipologie di sensori, in quanto ciascun soggetto è stato confrontato con se stesso.

*Calcoli:* La risposta postprandiale al pasto è stata valutata come area incrementale (iAUC) ed è stata calcolata con il metodo trapezoidale. Inoltre sono stati calcolati:

- Picco di glucosio, calcolato come la massima escursione glicemica rispetto ai valori basali entro le 6 ore successive al consumo del pasto.
- Tempo di picco, calcolato nel momento in cui il picco glicemico ha raggiunto la massima escursione.

Per tenere conto dei pochi eventi ipoglicemici osservati (glicemia < 3.9 mmol/L) (BIG: EVOO = 0, Burro = 1, e PG = 2; AGI: EVOO = 2, Burro = 0, e PG = 3), abbiamo utilizzato l'ultimo valore rilevato dal sensore prima di trattare l'evento ipoglicemico per il calcolo dell'iAUC e del profilo glicemico.

A causa di problemi tecnici relativi allo scarico dei dati del monitoraggio in continuo della glicemia di un partecipante durante la settimana ad alto indice glicemico, i dati della risposta glicemica postprandiale dopo i pasti ad alto indice glicemico sono disponibili solo per 12 soggetti.

## **Calcolo della dimensione del campione**

La grandezza del campione (13 pazienti) è stata calcolata in base alla risposta glicemica postprandiale (iAUC) che è l'outcome primario dello studio. Non ci sono dati disponibili in letteratura per verificare l'effetto dei grassi sulla risposta glicemica postprandiale in soggetti con diabete mellito tipo 1; pertanto, abbiamo ipotizzato che l'effetto dei grassi fosse lo stesso osservato per pasti diversi tra loro per qualità dei carboidrati. Pertanto, questa dimensione del campione fornisce l'80% del potere statistico in grado di individuare una differenza (in iAUC) di  $358 \text{ mmol/L} \times 180 \text{ min}$  tra pasti ad alto e basso indice glicemico con un livello di significatività del 5% assumendo una deviazione standard intraindividuale (in iAUC) di  $396 \text{ mmol/L}$ , precedentemente osservata in soggetti con DM1 che hanno consumato due pasti sperimentali diversi solo per qualità dei carboidrati [69].

## **Analisi statistica**

I risultati dello studio sono espressi come media $\pm$ deviazione standard (M $\pm$ DS), se non diversamente specificato. L'outcome primario è stato la risposta glicemica postprandiale (iAUC) mentre gli outcome secondari sono stati il picco glicemico ed il tempo di picco.

In ogni serie (AIG o BIG), sia l'outcome primario che gli outcome secondari sono stati valutati con l'ANOVA per misure ripetute.

L'analisi statistica è stata eseguita secondo i metodi standard mediante il software Statistical Package for Social Sciences versione 21.0 (SPSS/PC; SPSS, Chicago, IL, USA).

## **Risultati**

### *Caratteristiche dei partecipanti*

L'età dei partecipanti è di  $38 \pm 11$  anni, l'IMC di  $24.8 \pm 2.9 \text{ kg/m}^2$ . La durata del diabete è stata di  $25 \pm 3$  anni, i pazienti erano in discreto compenso glicemico ( $\text{HbA}_{1\text{C}} 7.5 \pm 1.0 \%$  [ $57 \pm 13 \text{ mmol/mol}$ ]). La dose totale di insulina era in media di  $41.1 \pm 10.7 \text{ UI}$ . Un soggetto aveva sviluppato retinopatia e due avevano sia la retinopatia che la neuropatia periferica.



### *Dosi di insulina ai pasti:*

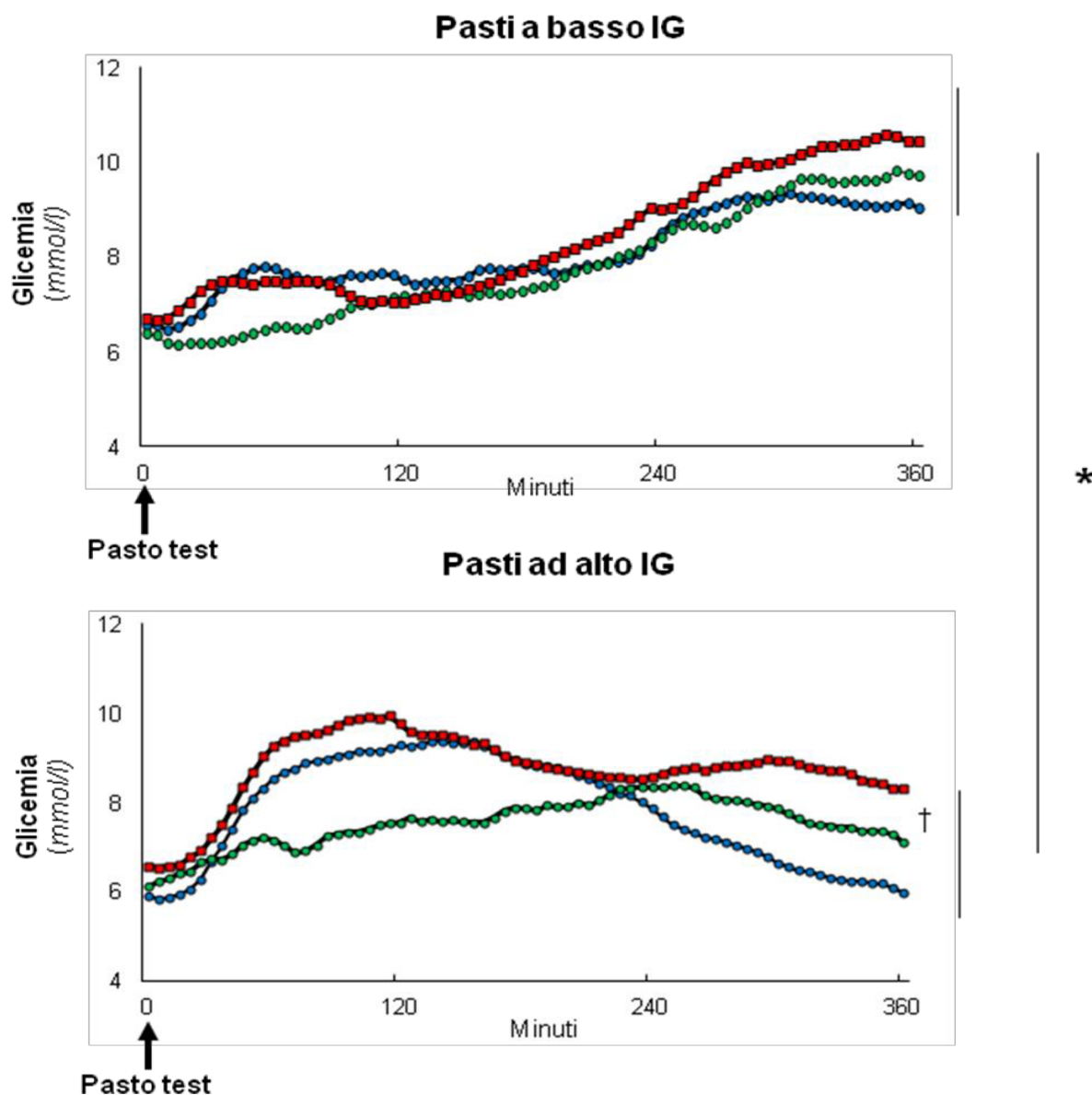
Le dosi di insulina somministrate prima dei pasti LGI sono state significativamente più basse rispetto a quelle praticate per i pasti HGI ( $8.3 \pm 2.0$  VS.  $12.6 \pm 3.5$  IU,  $p < 0.0001$ ) e sono state determinate in base al rapporto personalizzato insulina/carico glicemico.

### *Glicemia Postprandiale*

#### *Effetti dell'Indice Glicemico*

Il profilo glicemico postprandiale valutato fino a 6 ore è stato significativamente diverso per i pasti AIG rispetto a quelli BIG ( $p = 0.005$  ANOVA per misure ripetute) (figura 6).

**Figura 6. Profilo glicemico postprandiale determinato dal consumo del pasto EVOO, Burro e PG nell'ambito dei pasti a basso e ad alto indice glicemico (BIG e AIG).**



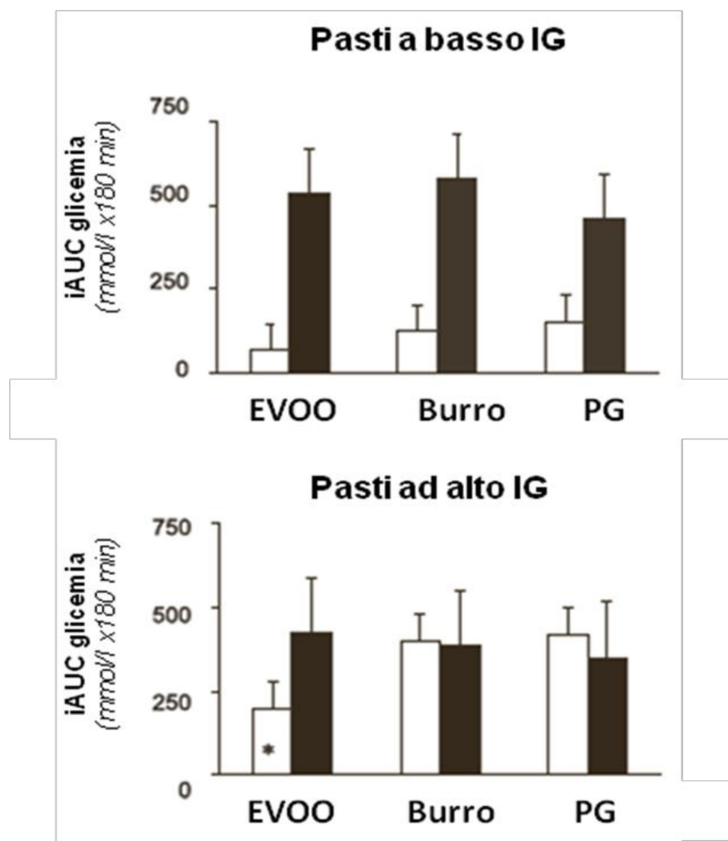
pasto EVOO: quadrati verdi; pasto Burro: quadrati rossi; pasto PG: quadrati blu

\* $p = 0.005$  interazione *tempo* x *indice glicemico* – ANOVA per misure ripetute;

† $p < 0.0001$  interazione *tempo* x *pasto* – ANOVA per misure ripetute

La differenza più significativa si è osservata nelle prime 3 ore, con una area sotto la curva significativamente più bassa dopo i pasti BIG rispetto a quelli AIG ( $112 \pm 62$  vs.  $337 \pm 76$  mmol/L x 180 min,  $p = 0.006$  ANOVA per misure ripetute). Non si sono osservate differenze tra i pasti AIG e BIG relativamente all'area incrementale postprandiale (3-6 ore) (figura 7).

**Figura 7. Area incrementale postprandiale del glucosio (iAUCs) dopo il consumo del pasto EVOO, Burro e PG nell'ambito dei pasti a basso o ad alto indice glicemico.**



Rettangoli bianchi: area incrementale iAUC 0-180 min; rettangoli neri: area incrementale iAUC 180-360 min. \* $p < 0.05$  vs. Burro e PG dopo analisi post-hoc ANOVA per misure ripetute. Area incrementale del glucosio iAUC dopo tutte le combinazioni tra pasti BIG e AIG:  $p = 0.006$  ANOVA per misure ripetute

Il tempo impiegato dal glucosio a raggiungere il massimo valore (tempo di picco) si è verificato significativamente più tardi nei pasti BIG rispetto a quelli AIG ( $253 \pm 27$  vs.  $156 \pm 26$  min,  $p = 0.003$  ANOVA per misure ripetute). Non si sono osservate differenze significative nel valore massimo di glicemia determinata da pasti BIG e AIG ( $4.7 \pm 0.7$  vs.  $5.3 \pm 0.9$  mmol/L,  $p = 0.491$ ).

### *Effetti dei grassi nei pasti LGI*

Nell'ambito dei pasti BIG, la qualità e la quantità dei grassi non hanno influenzato significativamente la risposta glicemica postprandiale. Pertanto, non si sono osservate differenze significative nel profilo glicemico generale determinato dal pasto EVOO, Burro e PG (figura 6). Non si sono osservate differenze significative nemmeno per quanto riguarda le aree incrementali (iAUCs) sia in fase precoce (0-3 ore) che in fase tardiva (3-6 ore) (figura 7).

Il massimo valore di glucosio (determinato dai pasti LGI ed HGI) ed il tempo impiegato dal glucosio a raggiungere il valore massimo, non sono stati influenzati dalla qualità o quantità dei grassi (tabella 9).

**Tabella 9. Picco glicemico e tempo di picco nell'ambito dei pasti ad alto e basso indice glicemico.**

	Pasti a basso IG			Pasti ad alto IG			
	EVOO	Burro	PG	EVOO	Burro	PG	p
Picco glicemico (mmol/L)*	4.5±1.8	4.8±3.6	4.5±2.8	4.3±0.9	6.1±1.1	5.4±1.2	0.491
Tempo di picco (min) †	261±113	265±111	234±114	190±101‡	133±104	146±81	0.003

I dati sono espressi come media ± deviazione standard. ‡P < 0.05 vs. Burro o PG (pasti ad alto IG) dopo analisi post-hoc - ANOVA per misure ripetute; \*Massima escursione glicemica rispetto ai valori al basale e nelle 6 ore successive dopo il consumo del pasto test; †tempo della massima escursione glicemica

### *Effetti dei grassi nei pasti HGI*

Nell'ambito dei pasti AIG, si è osservato un rapido aumento della risposta glicemica postprandiale in fase precoce dopo il consumo del pasto Burro e di quello PG; al contrario, il pasto EVOO ha mostrato un aumento più contenuto (figura 6).

In fase tardiva, le concentrazioni di glucosio sono tornate ai valori al basale dopo il pasto PG, mentre sono rimaste elevate durante l'intero periodo postprandiale dopo il consumo del pasto Burro. Queste differenze nel profilo della risposta glicemica postprandiale dopo il consumo dei tre pasti sono state altamente significative (p < 0.0001 ANOVA per misure ripetute).

Inoltre, l'area incrementale postprandiale 0-3 ore (iAUC) è stata significativamente più bassa dopo il pasto EVOO (198 ± 274 mmol/L X 180 min) rispetto al pasto Burro

( $398 \pm 355$  mmol/L X 180 min) o PG ( $416 \pm 329$  mmol/L X 180 min) ( $p < 0.05$  EVOO vs. burro o povero in grassi) (ANOVA per misure ripetute)(figura 7). Non si sono osservate differenze significative tra le aree incrementali della glicemia nella fascia 3-6 ore (iAUC) tra i tre pasti ad alto indice glicemico (figura 7).

Il picco di glicemia tendeva a valori più bassi dopo il consumo del pasto EVOO rispetto a quello Burro o PG ( $p = 0.277$ ) (tabella 10). Il tempo di picco si è verificato significativamente più tardi dopo il pasto EVOO rispetto a quello Burro o PG ( $p = 0.035$ ) (tabella 9).

### **Discussione e conclusioni**

Questo studio dimostra per la prima volta che la qualità dei grassi influenza in modo significativo la risposta glicemica postprandiale nei pazienti con diabete di tipo 1. In particolare, i nostri dati dimostrano che 1) l'aggiunta di EVOO ad un pasto ad alto IG attenua la risposta glicemica postprandiale rispetto ad un pasto ricco in Burro o PG, 2) né la qualità né la quantità dei grassi influenza la risposta glicemica postprandiale nei pasti a basso indice glicemico, e 3) l'IG di un pasto influenza significativamente l'ampiezza e la forma del profilo glicemico durante le 6 ore successive al consumo del pasto test indipendentemente dalla qualità e quantità di grassi aggiunta.

Nel nostro studio 37 g di EVOO in un pasto ad alto IG ha determinato una riduzione clinicamente significativa di circa il 50% della risposta glicemica postprandiale precoce rispetto ai pasti con simile composizione ma ricchi in burro (43 g) o poveri in grassi.

Precedenti ricerche hanno focalizzato l'attenzione sull'influenza della quantità dei grassi mostrando principalmente un'iperglicemia postprandiale tardiva determinata dai grassi della dieta, mentre non si sono osservati dati rilevanti in merito alla risposta glicemica postprandiale in fase precoce, che si è dimostrata ridotta in alcuni studi [56].

Il nostro studio dimostra che nei pazienti con diabete tipo 1, la tipologia di grassi contenuta nei pasti può avere effetti molto più rilevanti rispetto alla quantità dei grassi, in particolare sulla risposta glicemica postprandiale in fase precoce.

Questi risultati potrebbero pertanto contribuire a spiegare i risultati controversi ottenuti da precedenti studi che hanno indagato gli effetti dei grassi della dieta.

I risultati del nostro studio potrebbero avere importanti conseguenze sul piano clinico nel trattamento dei pazienti con diabete tipo 1. Essi suggeriscono infatti che la combinazione degli effetti dei carboidrati e della qualità dei grassi dovrebbe essere tenuta in considerazione per il calcolo delle dosi prandiali di insulina e la loro relativa distribuzione.

Nel nostro studio, l'uso di diversi tipi di grassi, non ha influenzato la risposta glicemica postprandiale generata da pasti a basso indice glicemico, mentre ha determinato l'effetto contrario per i pasti ad alto indice glicemico.

Questo risultato conferma i precedenti dati ottenuti in pazienti con diabete tipo 1 [103] e tipo 2 [104]. Nel primo studio [103], l'aggiunta di EVOO a pasti a basso indice glicemico non ha influenzato la risposta glicemica postprandiale, mentre lo studio di Guillford, Bicknell e Scarpello [104], ha dimostrato che l'aggiunta di margarina influenza la risposta glicemica postprandiale determinata da un pasto a base di patate ma non a base di spaghetti. Inoltre, è molto probabile che il basso indice glicemico o l'elevato contenuto in fibre siano più importanti della qualità dei grassi nel modulare la digestione e l'assorbimento dei carboidrati. Di conseguenza, quando il pasto contiene prevalentemente alimenti a base di carboidrati ricchi in fibre a basso indice glicemico, per determinare la dose di insulina prandiale è sufficiente prendere in considerazione solo il carico glicemico del pasto. La qualità dei grassi, invece, dovrebbe essere considerata quando il pasto è ad alto indice glicemico.

È importante sottolineare che le differenze nei profili glicemici nella fase postprandiale precoce (2-3 ore) sono state osservate nonostante le dosi prandiali di insulina fossero state calcolate tenendo conto del carico glicemico dei pasti, e perciò significativamente più basse (> 30 % rispetto ai pasti ad alto indice glicemico) quando praticate per i pasti a basso indice glicemico.

D'altra parte, nella fase postprandiale tardiva, i valori glicemici sono risultati aumentati dopo i pasti a basso indice glicemico, mentre si sono avvicinati ai valori al basale dopo i pasti ad alto indice glicemico.

I risultati del nostro studio hanno permesso di esplorare l'andamento della risposta glicemica postprandiale fino a 6 ore dopo il consumo di un pasto, estendendo le attuali

conoscenze basate su studi che hanno protratto le loro osservazioni fino solo a 3-4 ore dopo il consumo del pasto sperimentale [70,87,105,106] ed hanno evidenziato i limiti dell'indice glicemico calcolato sulle prime 2-3 ore dopo il consumo di un pasto.

Inoltre, se confermate da studi futuri, queste considerazioni potrebbero avere importanti implicazioni cliniche. Potrebbero infatti essere tenute in considerazione per stabilire le modalità di somministrazione della dose di insulina prandiale [87] (es. bolo onda doppia) o per la scelta delle diverse tipologie di insulina caratterizzate da differenti cinetiche di assorbimento [105], o anche per modulare la quantità totale di insulina prandiale da adeguare al tipo di carboidrati presenti nel pasto [70].

Gli effetti benefici dell'olio extra vergine di oliva (EVOO) sulla risposta glicemica postprandiale potrebbero essere dovuti all'elevato contenuto di acidi grassi insaturi, in particolare, di grassi monoinsaturi che sono i principali acidi grassi dell'olio di oliva; in particolare, nel nostro studio, gli acidi grassi monoinsaturi sono stati presenti in quantità tre volte maggiore rispetto al pasto contenente burro.

Questo è anche supportato dagli effetti favorevoli sulla concentrazione plasmatica di glucosio, mostrati dall'olio di canola arricchito in mufa [107].

L'influenza del grado di insaturazione dei grassi sulla risposta glicemica postprandiale e su quella insulinica sono state valutate in soggetti sani [62,108] ed in soggetti con diabete tipo 2 [99]. I risultati emersi non sono univoci, e l'aspetto più critico è legato prevalentemente ai diversi disegni di studio utilizzati per condurre la sperimentazione. Questi studi hanno evidenziato che i diversi tipi di grassi possono influenzare la risposta glicemica postprandiale in quanto implicati nei meccanismi di svuotamento gastrico e di conseguenza nel metabolismo del glucosio. In particolare, ci sono evidenze che hanno dimostrato che gli acidi grassi monoinsaturi possono stimolare la secrezione di glucagon-like peptide (GLP-1) più dei grassi saturi [98,100,101], probabilmente influenzando il grado di svuotamento gastrico.

Questo potrebbe contribuire a spiegare le differenze osservate nella risposta glicemica postprandiale, in particolare nei soggetti con diabete tipo 1, nei quali l'assenza di secrezione insulinica amplifica l'importanza degli altri ormoni regolatori coinvolti nella risposta insulinica postprandiale.

Il nostro studio, che è stato realizzato in un contesto di real-life, non ha permesso di esplorare i possibili meccanismi che sottendono gli effetti dei diversi tipi di grassi sulla risposta glicemica postprandiale in soggetti con diabete tipo 1.

L' evidenza di una ridotta risposta glicemica postprandiale determinata da un pasto arricchito con olio di oliva extravergine e i possibili meccanismi che vedono coinvolti gli ormoni dell'apparato gastrointestinale sono di grande rilevanza clinica.

Sicuramente la novità dell'argomento trattato dal nostro studio, il disegno di studio cross-over randomizzato e l'utilizzo del monitoraggio in continuo della glicemia rappresentano dei punti di forza del nostro studio.

Un possibile limite invece potrebbe essere stato il contesto sperimentale in real-life, in quanto i pasti sono stati consumati a casa dai partecipanti e questo potrebbe aver inficiato le procedure sperimentali standardizzate. Comunque, soprattutto prima e durante il pasto sperimentale, la comunicazione tra partecipanti e operatori sanitari coinvolti nel protocollo di studio è stata intensiva.

Inoltre, l'aver osservato differenze significative anche in condizioni che potrebbero aver aumentato la variabilità, rafforza le nostre osservazioni. L'aver condotto la sperimentazione in un contesto di real-life non ci ha permesso di esplorare i possibili meccanismi che sottendono le differenti risposte glicemiche postprandiali. Infine, un altro limite potrebbe essere legato alla minore rilevanza dei risultati ottenuti riguardo l'olio extra vergine di oliva per tutti quei paesi che non lo consumano abitualmente.

In conclusione, il nostro studio dimostra che l'aggiunta di EVOO ad un pasto ad alto indice glicemico attenua la risposta glicemica postprandiale in fase precoce rispetto al pasto contenente Burro o povero in grassi.

Inoltre, pasti a basso indice glicemico determinano una riduzione della risposta glicemica postprandiale in fase precoce ed un aumento in fase tardiva, indipendentemente dalla tipologia di grassi aggiunti.

Pertanto, al fine di garantire una adeguata somministrazione di insulina prandiale, dovrebbe essere considerata sia la qualità dei grassi che dei carboidrati.



Questo risultato genera importanti implicazioni cliniche, come ad esempio la ridotta oscillazione dei valori glicemici che si ripercuote positivamente sulla qualità della vita dei soggetti con DM1 contribuendo infatti alla prevenzione delle complicanze acute e croniche.

Inoltre, gli effetti benefici dell'utilizzo dell'olio extra vergine di oliva anche sulla risposta glicemica postprandiale rappresentano una ulteriore motivazione per preferire gli acidi grassi monoinsaturi agli acidi grassi saturi per la prevenzione delle malattie cardiovascolari in soggetti con DM1.

I meccanismi che sottendono gli effetti mediati dall'olio extra vergine di oliva sulla risposta glicemica postprandiale, così come il diverso impatto della qualità dei grassi e delle altre possibili molecole coinvolte (es. i polifenoli) richiedono studi ulteriori.

#### **5.3.1 Meccanismi gastrointestinali alla base dell'effetto dell'olio extra vergine di oliva sulla risposta glicemica postprandiale in soggetti con diabete tipo 1 (lavoro sottomesso a Metabolism Clinical and Experimental).**

I risultati di uno studio precedente, randomizzato e controllato, condotto in un contesto di real-life in pazienti con diabete mellito tipo 1 in trattamento con microinfusore di insulina, hanno dimostrato che l'aggiunta di olio extra vergine di oliva (EVOO) a pasti ad alto indice glicemico è in grado di attenuare la risposta glicemica postprandiale rispetto all'aggiunta di burro o in presenza di una ridotta quantità di grassi [69].

Purtroppo è attualmente poco chiaro, come l'olio extra vergine di oliva influenzi la risposta glicemica postprandiale. Probabilmente, potrebbero essere coinvolti i principali regolatori fisiologici della risposta glicemica postprandiale, compreso i meccanismi che regolano lo svuotamento gastrico e gli ormoni dell'apparato gastrointestinale [96].

Lo svuotamento gastrico (SG) è uno dei maggiori determinanti della risposta glicemica postprandiale nei soggetti in assenza di patologie, ma anche nei soggetti con diabete tipo 1 e tipo 2, ed è a sua volta in relazione con la composizione del pasto. In particolare, la quantità dei grassi contenuta nel pasto è in grado di rallentare lo svuotamento gastrico nei soggetti in assenza di patologia [97] e nelle persone con diabete mellito tipo 1 [57].

Relativamente alla qualità dei grassi, gli acidi grassi monoinsaturi (MUFA) sembrerebbero rallentare lo SG rispetto agli acidi grassi polinsaturi (PUFA) della serie n-3 ed n-6, e agli acidi grassi saturi (SFA) nelle persone in assenza di patologia [70].

La qualità dei grassi contenuti nel pasto potrebbe influenzare lo svuotamento gastrico attraverso modifiche della secrezione postprandiale del glucagon-like peptide 1 (GLP-1) e del peptide gastrointestinale (GIP). In particolare, i MUFA sembrano stimolare la secrezione di GLP-1 più dei SAFA sia nella popolazione sana [97] che nei soggetti con diabete tipo 2 [101,111,112], mentre il GIP sembrerebbe essere stimolato dai SAFA e inibito dall'olio di pesce rispetto agli altri tipi di grassi nei soggetti sani [113,114].

Il GLP-1 potrebbe inoltre influenzare la risposta glicemica postprandiale in soggetti con diabete tipo 1 indipendentemente dai suoi effetti sullo svuotamento gastrico attraverso i suoi effetti glucagonostatici [115].

I diversi tipi di grassi potrebbero inoltre influenzare la risposta glicemica postprandiale determinando differenti risposte lipidiche postprandiali, in quanto i due metabolismi, quello del glucosio e quello dei grassi, sono in stretta relazione [116].

## **Scopo**

Gli scopi di questo studio sono esplorare i possibili meccanismi che sottendono la ridotta risposta glicemica postprandiale determinata da pasti ad alto indice glicemico arricchiti con olio extra vergine di oliva e valutare il possibile ruolo dello svuotamento gastrico e dei cambiamenti relativi alla secrezione degli ormoni gastrointestinali e alla lipemia postprandiale.

## **Materiali e metodi**

*Partecipanti:* quattordici pazienti con diabete di tipo 1 (8 donne e 6 uomini) sono stati reclutati presso l'ambulatorio del Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia dell'Università Federico II di Napoli dopo aver sottoscritto il consenso informato alla partecipazione allo studio. I criteri di inclusione sono stati il trattamento con microinfusore di insulina da almeno 6 mesi, valori di HbA1c < 8,0% (64 mmol/mol). I criteri di esclusione sono stati gravidanza, malattia celiaca, complicanze micro e macrovascolari inclusa la neuropatia autonoma (che può influenzare lo svuotamento gastrico), e qualsiasi altra malattia cronica o acuta a parte il diabete.

I pazienti che rientravano nei criteri di inclusione sono stati invitati a partecipare allo studio durante le loro regolari visite ambulatoriali. Le analisi riportate in questo lavoro si riferiscono ad 11 soggetti per i quali sono disponibili tutte le valutazioni previste dal protocollo di studio: alcuni soggetti sono stati esclusi dalle analisi finali a causa della comparsa di eventi ipoglicemici occorsi durante il consumo del pasto sperimentale (n = 1) o a causa di una ridotta adesione al protocollo di studio (n = 2). Il protocollo sperimentale è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II" e registrato su ClinicalTrials.gov, numero identificativo NCT02330939.

### **Disegno dello studio**

La fase di intervento dello studio è stata preceduta da una settimana di osservazione (run-in) durante la quale ciascun partecipante ha compilato un diario alimentare di 7 giorni in maniera dettagliata, allo scopo di calcolare il rapporto insulina/carico glicemico secondo le modalità precedentemente descritte [70]. Inoltre, per raggiungere questo obiettivo, a ciascun soggetto è stato impiantato un sistema di monitoraggio in continuo della glicemia (CGM) della durata di 7 giorni.

Lo studio è stato condotto secondo un disegno cross-over randomizzato, pertanto, i partecipanti, sono stati assegnati in maniera casuale, al consumo di 3 pasti contenenti la stessa quantità di carboidrati ma diversi per quantità e tipo di grassi: 1) pasto ricco di acidi grassi monoinsaturi (EVOO), 2) pasto ricco in acidi grassi saturi (Burro) e 3) pasto povero in grassi (PG). L'ordine di consumo dei pasti è stato random.

I partecipanti, a cadenza settimanale, si sono recati in corsia metabolica in tarda mattinata ed hanno consumato il pasto test a pranzo. I pasti sperimentali sono stati precedentemente preparati in una cucina metabolica ed in seguito congelati fino al giorno del pasto test in cui sono stati scongelati secondo tecniche standardizzate. I partecipanti hanno consumato il pasto sperimentale in 15 minuti avendo a disposizione 250 ml di acqua. Qualora la glicemia non fosse stata entro il range di 5-8 mmol/L, e non stabile (3.3 mmol/L) durante gli ultimi 60 minuti (verificabile attraverso il sistema di monitoraggio in continuo della glicemia), il consumo del pasto test doveva essere posticipato alla settimana successiva.

Per limitare possibili bias, è stato chiesto a ciascun partecipante di fare colazione entro le 7.00 del mattino scegliendo di consumare i medesimi alimenti in occasione delle tre giornate dedicate al consumo del pasto test. E' stato inoltre consigliato di evitare di praticare attività fisica (anche se lieve o moderata) il giorno prima del consumo del pasto sperimentale, di evitare di effettuare snack o di praticare boli di insulina, e di cambiare l'infusione di insulina basale nelle 6 ore precedenti il consumo dei pasti sperimentali. Dopo il consumo del pasto test, ciascun partecipante è stato invitato a restare seduto durante le 6 ore successive, e di intrattenersi chiacchierando, leggendo o guardando la TV. Le dosi di insulina praticate immediatamente prima del consumo del pasto sperimentale erano state calcolate in base al rapporto personalizzato insulina/carico glicemico di ciascun partecipante, determinato durante il precedente corso di addestramento all'utilizzo del carico glicemico per la determinazione del bolo di insulina prandiale. La dose di insulina praticata da ciascun soggetto è stata la stessa in occasione dei 3 pasti. La velocità di infusione dell'insulina basale non è stata modificata né durante la fase postprandiale che si è protratta fino a 6 ore dopo il consumo del pasto sperimentale né per i tre tipi di pasti. Durante l'intero periodo sperimentale di tre settimane, i partecipanti sono stati sottoposti a monitoraggio in continuo della glicemia (CGM). Inoltre durante i giorni individuati per la sperimentazione, prima e nelle 6 ore successive il consumo del pasto test, i partecipanti sono stati sottoposti ad ecografia gastrica per la valutazione del grado di svuotamento gastrico e al prelievo di sangue venoso per la determinazione delle concentrazioni di GLP-1, GIP, glucagone, e dei lipidi plasmatici.

#### *Composizione dei pasti sperimentali:*

I pasti sperimentali erano costituiti da riso brillato (60 g), pane bianco (75 g), carne di manzo tritata (90 g), e banana (180 g) più burro (43 g) o olio di oliva extra vergine (37 g), con 8 g di olio extra vergine di oliva nel pasto a ridotto contenuto in grassi. Sia la quantità di burro che di olio extra vergine è stata aggiunta al pasto poco prima del surgelamento. L'apporto energetico e la quantità totale dei grassi era simile per il pasto EVOO (988 kcal; 40.5 g) e quello Burro (982 kcal; 39.4 g); al contrario, il pasto a ridotto contenuto in grassi (PG) si caratterizzava per un ridotto apporto energetico (721 kcal) dovuto esclusivamente

al ridotto contenuto in grassi (10.6 g). I tre pasti contenevano la stessa quantità di carboidrati (130 g) e di proteine (34 g), ma differivano per la quota di acidi grassi saturi e monoinsaturi presente nel pasto EVOO (6.5 g e 27.9 g), Burro (22.1 g e 11.1 g) e PG (2.2 g e 6.6 g), rispettivamente.

#### *Metodi e procedure di laboratorio:*

##### *Monitoraggio in continuo della glicemia*

Per il monitoraggio in continuo della glicemia, 7 partecipanti hanno utilizzato i sensori Enlite Medtronic, mentre 4 partecipanti i sensori G4 Dexcom. Al termine delle due settimane sperimentali, i dati registrati attraverso il sistema di monitoraggio in continuo ed attraverso il microinfusore di insulina sono stati scaricati attraverso software dedicati. I partecipanti, dopo essere stati addestrati, hanno utilizzato il sistema di monitoraggio della glicemia integrato con il microinfusore di insulina.

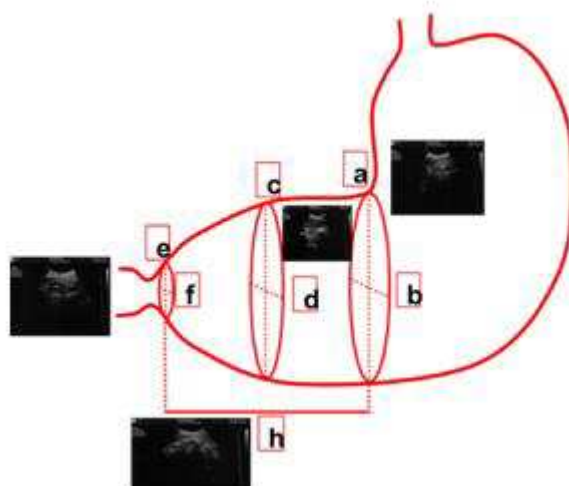
##### *Svuotamento gastrico*

La velocità di svuotamento gastrico è stata valutata con metodica ecografica, utilizzando un ecografo digitale MINDRAY M7 (Shenzhen – China), corredato di una sonda convex-array con un range 2 - 6 MHz. Le misure ecografiche sono state effettuate prima dei pasti e ogni 30 minuti nelle sei ore successive al pasto, limitandosi alla sezione finale dello stomaco (antro-piloro) regione che consente una visione costante e la relativamente semplice misura del volume antrale. Queste scansioni sono state effettuate su soggetti in piedi in modo da favorire il trasferimento dell'aria verso il fondo dello stomaco. Per calcolare il volume antrale, sono state eseguite 3 scansioni sagittali per misurare i diametri anteroposteriori (a, c ed e) e longitudinali (b, d ed f). La prima scansione è stata effettuata a livello dell'angulus (regione di transizione tra il corpo dello stomaco e l'antro-piloro); la seconda ad un livello intermedio, corrispondente alla vena mesenterica superiore, e la terza, a livello dello sfintere pilorico dove è visibile lo spessore della parete muscolare. Infine, con una scansione trasversale si è misurata la lunghezza antrale dall'angulus al piloro (h). Il volume antrale è stato poi calcolato utilizzando la formula dell'ellissoide utilizzata da Bolondi et al [117]:

$$0.065 \times h \times (2ab+2ef+4cd+cb+ad+ed+cf)$$

in cui h è la lunghezza antrale, a, c ed e sono i diametri anteroposteriori, e b, d ed f i diametri longitudinali misurati ad ogni scansione (figura 8). Questa metodica è stata precedentemente validata rispetto al metodo scintigrafico [118].

**Figura 8. Valutazione dello svuotamento gastrico.**



a, c ed e: diametri anteroposteriori; b, d ed f: diametri longitudinali ed h: scansione trasversale

### *Misure di laboratorio*

#### *Incretine ed ormoni*

Prima e ai tempi 15, 30, 60, 90, 120, 180 minuti dopo il consumo del pasto test, sono stati effettuati prelievi di sangue venoso per la determinazione delle concentrazioni plasmatiche di GLP-1, GIP e glucagone. I prelievi venosi sono stati raccolti in provette arricchite con EDTA (acido etilendiaminotetracetico) o con EDTA e aprotinina, successivamente centrifugate e conservate a - 80°C prima di essere processate.

Il GLP-1 attivo è stato dosato con il metodo ELISA (Merck-Millipore, Darmstadt, Germania) avente il 100% di reattività crociata con le 2 isoforme attive (7-36 amide e 7-37 glicina-estesa) ma nessuna reattività con le isoforme inattive (9-36 amide e 9-37 glicina-estesa), né con il GLP-2 o glucagone [119].

Il GIP è stato dosato con il metodo ELISA (Merck-Millipore, Darmstadt, Germania) avente il 100% di reattività crociata al GIP umano (1-42) e (3-42). Le concentrazioni di glucagone

sono state analizzate attraverso dosaggio radioimmunologico (Euria-Glucagon, EuroDiagnostica, Malmö, Sweden).

#### *Altre determinazioni*

Le concentrazioni di trigliceridi (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germania) e quelle degli acidi grassi liberi (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Germany) sono state dosate prima e ai tempi 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minuti dopo il consumo del pasto test sull'autoanalizzatore Cobas Mira (ABX Diagnostics, Montpellier, Francia) con metodi enzimatici-colorimetrici standard.

#### **Analisi statistica**

I dati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard ( $M \pm DS$ ) se non diversamente specificato. Le differenze nel profilo postprandiale del glucosio, degli ormoni e dei lipidi sono state valutate mediante ANOVA per misure ripetute. Le differenze tra il volume gastrico ai singoli tempi sono state valutate mediante t-test per dati appaiati. È stato considerato significativo un valore di  $p < 0.05$ . L'area incrementale postprandiale (iAUC) è stata calcolata attraverso il metodo trapezoidale.

Le differenze tra le aree incrementali (iAUC) determinate dai 3 pasti e i valori riferiti ai singoli tempi, sono stati valutati mediante ANOVA per misure ripetute; quando i dati non erano normalmente distribuiti, attraverso l'analisi della varianza per ranghi (test di Friedman). L'analisi statistica è stata eseguita secondo i metodi standard mediante il software Statistical Package for Social Sciences versione 21.0 (SPSS/PC; SPSS, Chicago, IL, USA).

#### **Risultati**

##### *Caratteristiche dei partecipanti*

L'età dei partecipanti era di  $41 \pm 9$  anni ed avevano un IMC di  $24.9 \pm 2.2$  kg/m<sup>2</sup>. La durata del diabete era di  $25 \pm 9$  anni e i partecipanti erano in discreto compenso glicemico (HbA1C  $7.0 \pm 0.6$  % [ $53 \pm 6$  mmol/mol]). Un solo partecipante aveva precedentemente

sviluppato retinopatia mentre due soggetti sia retinopatia che neuropatia periferica. La dose totale di insulina era in media di  $41.9 \pm 10.9$  UI. Le dosi di insulina somministrate ai pasti, calcolate in base al rapporto personalizzato insulina/carico glicemico, erano le stesse per ciascun soggetto, e variavano da 5 a 16 unità.

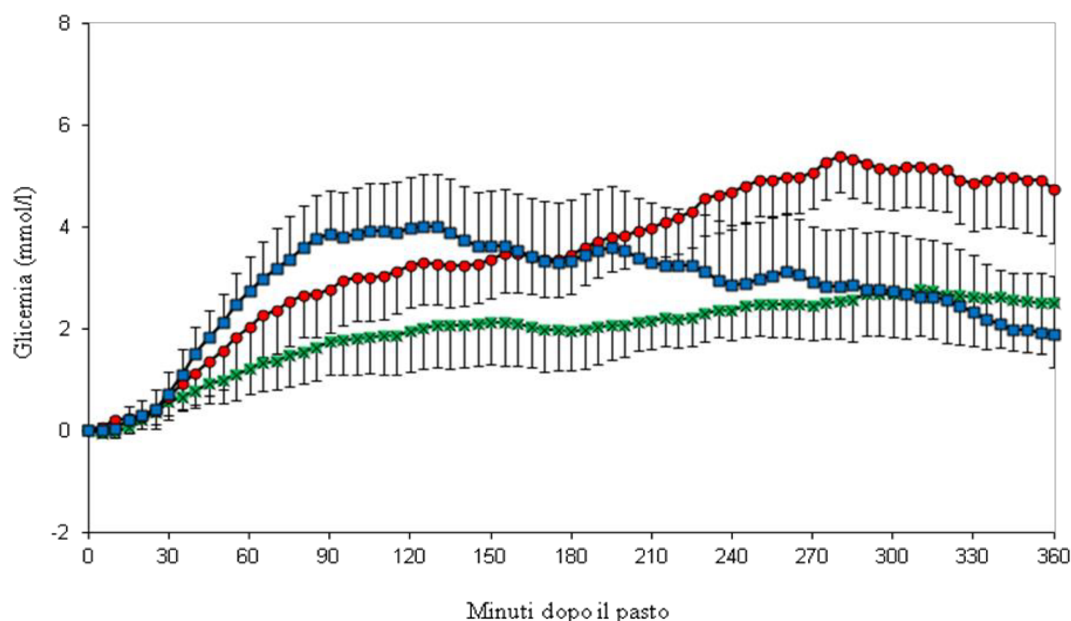
Il volume gastrico e le concentrazioni plasmatiche di glucosio, degli ormoni gastrointestinali, e dei lipidi prima del pasto EVOO, Burro e PG sono riportate nella tabella supplementare S1.

### *Glicemia postprandiale*

La risposta glicemica postprandiale determinata dal pasto EVOO si è dimostrata inferiore rispetto a quella determinata dal pasto Burro o da quello PG ( $p < 0.037$  interazione tempo x pasto – ANOVA a due vie per misure ripetute) (figura 9). La concentrazione plasmatica di glucosio è aumentata progressivamente nel periodo tardivo (3-6 ore) dopo il consumo dei pasti ricchi in grassi, a differenza di quella determinata dal pasto PG che ha evidenziato un picco dopo 2 ore. L'area incrementale postprandiale del glucosio (iAUC) si è dimostrata significativamente inferiore dopo il pasto EVOO ( $690 \pm 431$ ) rispetto al pasto Burro ( $1320 \pm 600$ ) o a quello PG ( $1007 \pm 990$ ) (mmol/l x 360 min;  $p = 0.041$ , ANOVA per misure ripetute: EVOO vs. Burro,  $p = 0.004$ ).



**Figura 9. Modifiche nella concentrazione di glucosio dopo il pasto EVOO, Burro e PG.**



Pasto EVOO: quadrati verdi; pasto Burro: cerchi rossi; PG: quadrati blu.

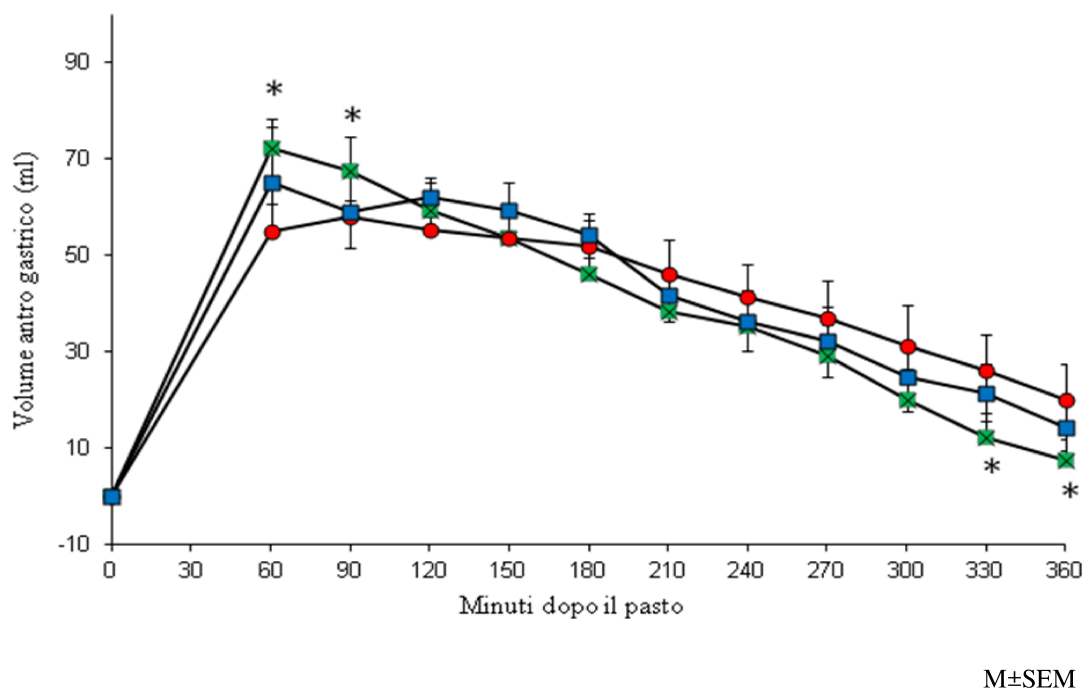
$p=0.037$  interazione tempo x pasto – ANOVA a due vie per misure ripetute; EVOO vs. Burro,  $p=0.004$ .

### *Svuotamento gastrico*

Il volume dell'antro gastrico nella fase postprandiale precoce è stato significativamente maggiore dopo il pasto EVOO rispetto a quello Burro (valori medi a 60-90 min:  $106 \pm 21$  vs.  $90 \pm 16$  ml,  $p = 0.048$ ), indicando uno svuotamento gastrico rallentato dopo il pasto EVOO (figura 10). Al contrario, durante la fase tardiva, il volume dell'antro gastrico è stato significativamente ridotto dopo il pasto EVOO rispetto a quello burro (valori medi 330-360 min:  $46 \pm 10$  vs.  $57 \pm 22$  ml,  $p = 0.045$ ).

In fase postprandiale tardiva, le concentrazioni plasmatiche di glucosio (valori medi 300-330 min) erano significativamente e positivamente correlati al volume dell'antro gastrico a 330 minuti ( $r = 0.528$ ,  $p = 0.002$ ) e a 360 minuti ( $r = 0.493$ ,  $p = 0.004$ ).

**Figura 10. Modifiche nel volume dell'antro gastrico dopo il pasto EVOO, Burro e PG.**



Pasto EVOO: quadrati verdi; pasto Burro: cerchi rossi; PG: quadrati blu.

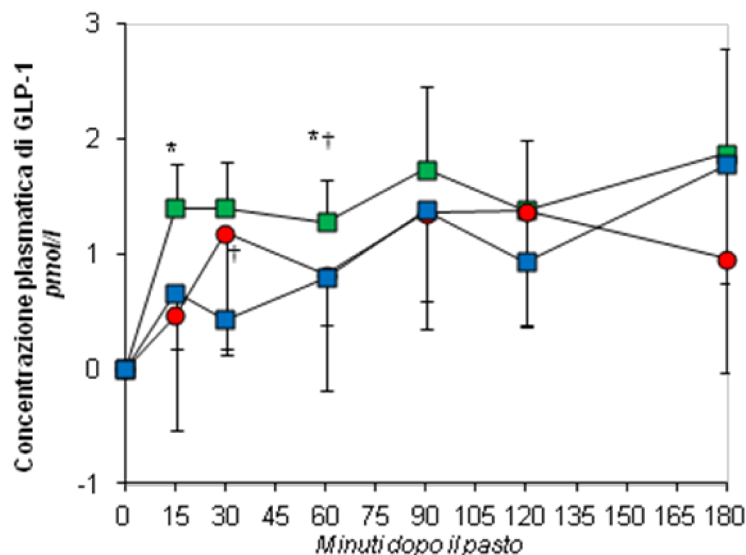
\* $p < 0.05$  EVOO vs. Burro

### *Ormoni gastrointestinali*

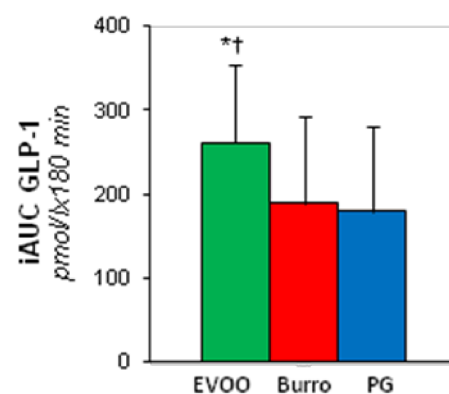
Le concentrazioni postprandiali di GLP-1 dopo 15, 30, e 60 minuti sono state significativamente maggiori dopo il pasto EVOO rispetto al pasto Burro e PG (figura 11A). Anche l'area incrementale postprandiale del GLP-1 è stata significativamente maggiore dopo il pasto EVOO ( $261 \pm 311$ ) rispetto al pasto Burro ( $189 \pm 349$ ) e a quello PG ( $180 \pm 337$ ) (pmol/l X 180 min;  $p = 0.009$  ANOVA per misure ripetute;  $p = 0.028$  EVOO vs. Burro,  $p = 0.004$  EVOO vs. povero in grassi) (figura 11B).

**Figura 11. Modifiche nella concentrazione di GLP-1 dopo il pasto EVOO, Burro e PG.**

**A)**



**B)**



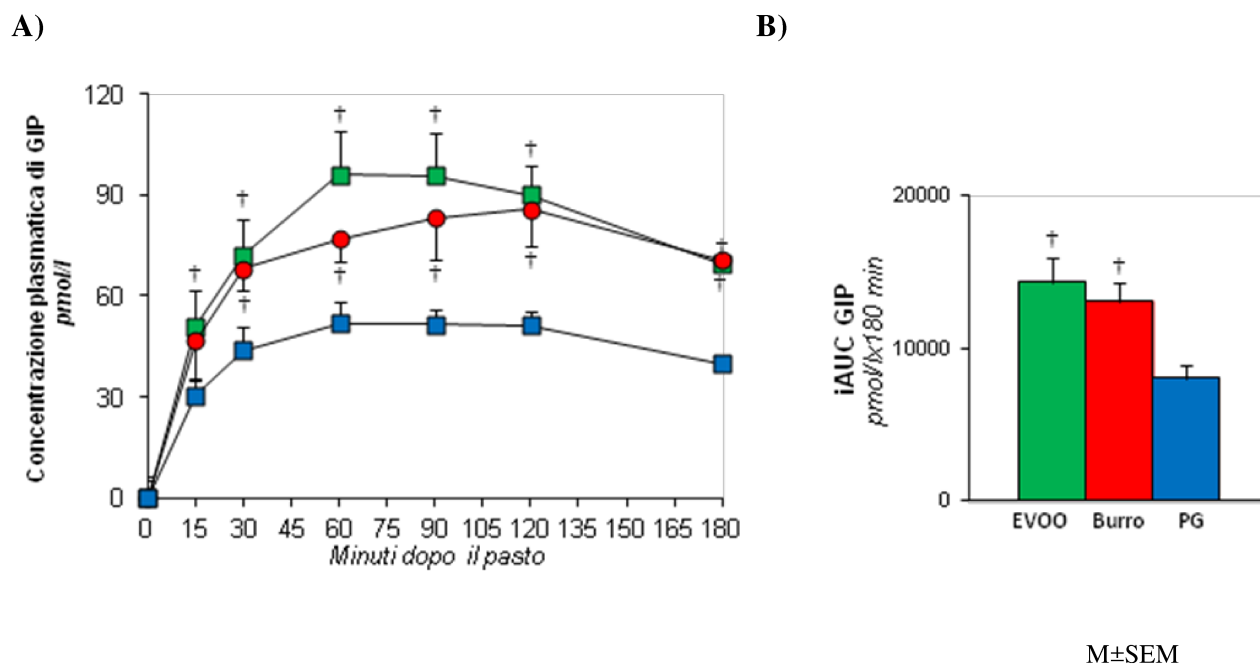
M±SEM

Pasto EVOO: quadrati verdi; pasto Burro: cerchi rossi; PG: quadrati blu.

\* $p < 0.05$  vs. Burro; † $p < 0.05$  vs. PG.

Le concentrazioni plasmatiche di GIP si sono dimostrate maggiori dopo il pasto EVOO rispetto a quello Burro e PG, con una differenza significativa tra i due pasti ricchi in grassi e quello a ridotto contenuto in grassi a tutti i tempi durante il periodo postprandiale (figura 12A). L'area incrementale postprandiale del GIP (iAUC) si è dimostrata significativamente maggiore dopo il pasto EVOO ( $18873 \pm 7250$ ) e Burro ( $17217 \pm 5344$ ) rispetto al pasto PG ( $10634 \pm 3680$ ) (pmol/l x 180 min;  $p < 0.001$  ANOVA per misure ripetute;  $p = 0.001$  EVOO vs. PG,  $p = 0.001$  Burro vs. PG) (figura 12B).

**Figura 12. Modifiche nella concentrazione di GIP dopo il pasto EVOO, Burro e PG.**



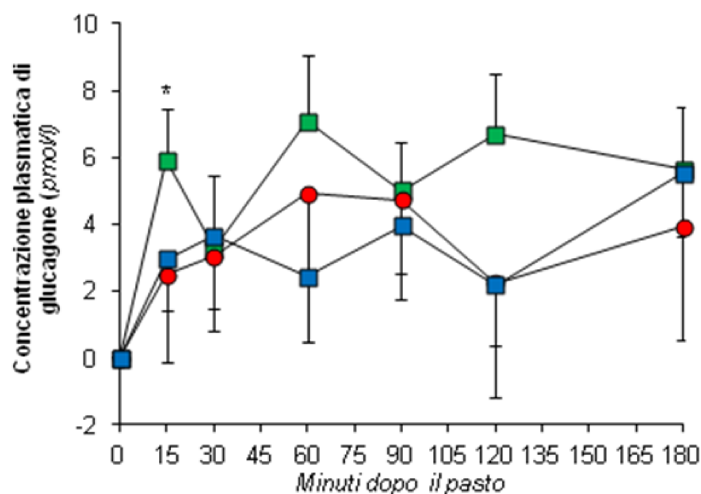
Pasto EVOO: quadrati verdi; pasto Burro: cerchi rossi; PG: quadrati blu.

†p<0.05 vs. PG.

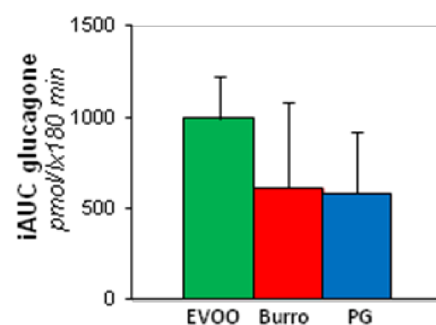
Le concentrazioni plasmatiche di glucagone si sono dimostrate solo leggermente aumentate dopo il consumo dei tre pasti senza delineare un evidente picco che invece si è dimostrato significativamente maggiore a 15, 60 e 120 minuti dopo il consumo del pasto EVOO rispetto a quello Burro e PG (figura 13A). Le concentrazioni medie postprandiali (15-180 minuti) sono state significativamente maggiori dopo il pasto EVOO ( $46.3 \pm 8.0$ ) e Burro ( $47.0 \pm 8.7$ ) rispetto a quello PG ( $42.5 \pm 8.0$ ) (pmol/l,  $p = 0.013$  ANOVA per misure ripetute). Le aree incrementali delle concentrazioni postprandiali di glucagone (iAUC) non si sono dimostrate significativamente diverse tra i tre pasti (figura 13B).

**Figura 13. Modifiche nella concentrazione di glucagone dopo il pasto EVOO, Burro e PG.**

**A)**



**B)**



M±SEM

Pasto EVOO: quadrati pieni; pasto Burro: cerchi vuoti; PG: quadrati vuoti

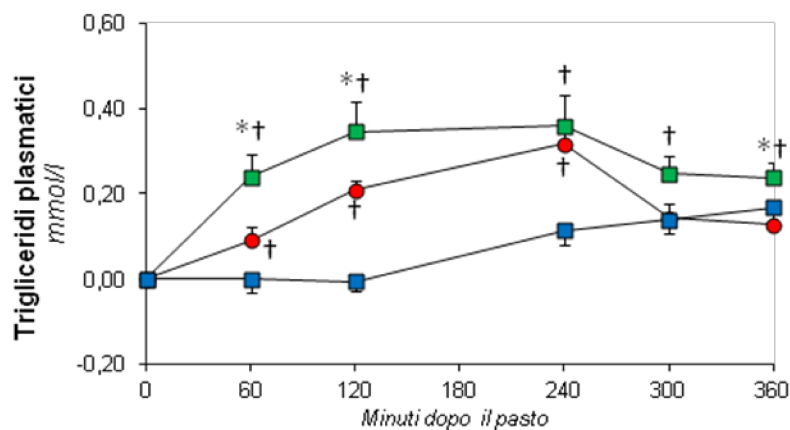
\*p<0.05 vs. Burro

### *Lipemia postprandiale*

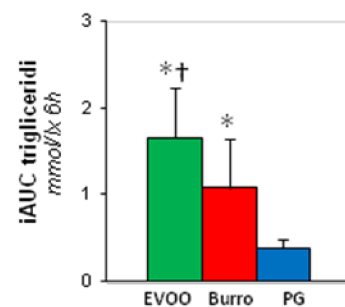
Le concentrazioni plasmatiche di trigliceridi si sono dimostrate significativamente aumentate dopo i due pasti ricchi in grassi rispetto al pasto PG, con un aumento marcato dopo il pasto EVOO rispetto a quello Burro a 60,120 e 360 minuti ( $p=0.005$  interazione tempo x pasto ANOVA a due vie per misure ripetute) (figura 14A). L'area incrementale postprandiale dei trigliceridi iAUC è stata significativamente più alta dopo il pasto EVOO ( $1.66\pm0.87$ ) rispetto a quello Burro ( $1.08\pm1.0$ ) e PG ( $0.38\pm0.39$ ) (mmol/l x 6 ore;  $p<0.001$  ANOVA per misure ripetute;  $p=0.048$  EVOO vs. Burro,  $p<0.001$  EVOO vs. PG,  $p<0.014$  Burro vs. PG) (figura 14B).

**Figura 14. Modifiche nella concentrazione di trigliceridi dopo il pasto EVOO, Burro e PG.**

A)



B)



M±SEM

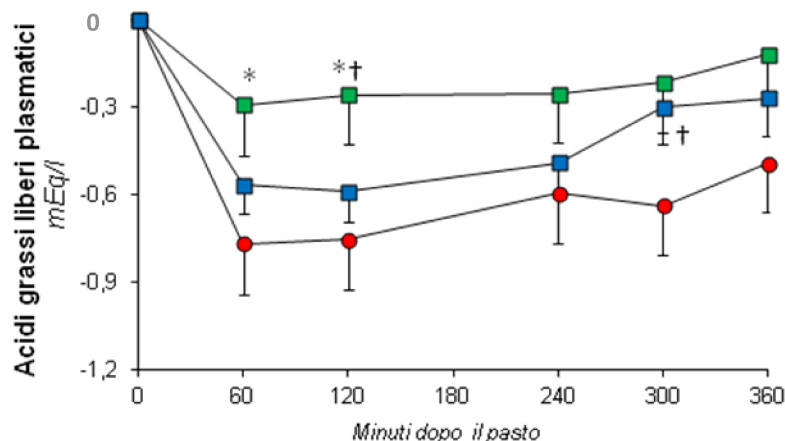
Pasto EVOO: quadrati verdi; pasto Burro: cerchi rossi; PG: quadrati blu

\*p<0.05 vs. Burro, †p<0.05 vs. PG.

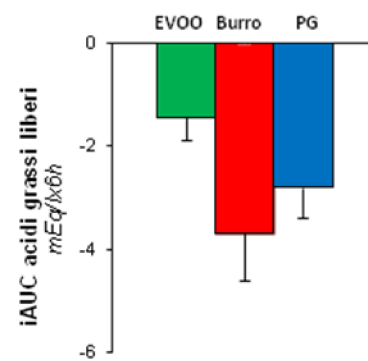
Le concentrazioni plasmatiche postprandiali di acidi grassi liberi sono state leggermente sopresse dopo il pasto EVOO rispetto al pasto Burro e PG, con una differenza significativa a 60 e 120 minuti (figura 15A). Le differenze tra le aree incrementali postprandiali si sono osservate dopo il pasto EVOO e Burro raggiungendo la significatività statistica ( $-1.43 \pm 1.57$  vs.  $-3.37 \pm 2.87$  mEq/L, rispettivamente;  $p=0.066$ ) (figura 15B).

**Figura 15. Modifiche nella concentrazione di acidi grassi liberi dopo il pasto EVOO, Burro e PG.**

A)



B)



M±SEM

Pasto EVOO: quadrati verdi; pasto Burro: cerchi rossi; PG: quadrati blu

\*p<0.05 vs. Burro, †p<0.05 vs. PG.

## Discussione e conclusioni

Il presente studio ha dimostrato che l'aggiunta di EVOO ad un pasto ad alto indice glicemico riduce la risposta glicemica postprandiale attraverso diversi cambiamenti relativi allo svuotamento gastrico, all'aumentata secrezione di GLP-1 e attraverso una risposta postprandiale dei trigliceridi più pronunciata e una ridotta inibizione degli acidi grassi.

Nel nostro studio, il pasto EVOO ha rallentato lo svuotamento gastrico in fase precoce, come mostrato dalle differenze significative nei volumi gastrici della fase postprandiale precoce dopo il consumo del pasto EVOO e di quello Burro. Al contrario, lo svuotamento gastrico è stato più veloce dopo il pasto EVOO durante la fase tardiva del periodo postprandiale. Poichè, ci si aspetterebbe una curva glicemica globalmente ridotta come conseguenza di un più lento svuotamento gastrico, gli effetti del pasto EVOO sullo svuotamento gastrico suggeriscono che solo modifiche postprandiali precoci dello svuotamento gastrico contribuiscono a ridurre la glicemia postprandiale.

Durante la fase postprandiale tardiva, in linea con la reciproca influenza tra svuotamento gastrico e iperglicemia [120], un fattore ancora più rilevante in grado di rallentare lo

svuotamento gastrico potrebbe essere rappresentato dall'aumento dei livelli plasmatici di glucosio.

Questo è anche suggerito, nel nostro studio, dalle correlazioni significative presenti tra le concentrazioni plasmatiche di glucosio e i volumi gastrici osservati dopo 6 ore dal pasto. Nella nostra coorte di pazienti con diabete tipo 1, il pasto EVOO ha indotto un maggior aumento delle concentrazioni plasmatiche postprandiali di GLP-1 rispetto al pasto Burro o PG.

Sebbene il GLP-1 sia il principale secretagogo glucosio-dipendente di insulina, la sua secrezione postprandiale è preservata in soggetti con diabete tipo 1 [115,121] e l'estensione della risposta postprandiale di GLP-1 è influenzata dalla dimensione e dalla quantità di grassi presenti nel pasto [57,112,121,122].

E' noto che la qualità dei grassi potrebbe influenzare la secrezione di GLP-1. In particolare, i mufa somministrati sia come emulsione di grassi [123] sia come olio di oliva [98] nei soggetti sani e in soggetti con diabete tipo 2 sono in grado di aumentare la secrezione postprandiale di GLP-1 rispetto al pasto contenente burro; al contrario il pasto EVOO aumenta la secrezione postprandiale di GLP-1 allo stesso modo del pasto Burro rispetto ai soli carboidrati in soggetti con resistenza all'insulina [124].

Il nostro studio dimostra che la qualità dei grassi aggiunti ad un pasto ad alto indice glicemico modula l'aumento postprandiale del GLP-1 anche in soggetti con diabete tipo 1, possibilmente contribuendo a spiegare la ridotta risposta glicemica postprandiale osservata dopo il consumo del pasto EVOO. Mentre nei soggetti sani e in quelli con diabete tipo 2, la diminuzione delle concentrazioni plasmatiche di glucosio causate dal GLP-1 di natura endogena o esogena è principalmente correlato alla stimolazione della secrezione insulinica, nei nostri soggetti con lunga storia di diabete tipo 1 è improbabile che questo meccanismo di azione possa svolgere un ruolo chiave.

E' più probabile invece che il GLP-1 abbia potuto agire riducendo la percentuale di svuotamento gastrico [125]. Il concomitante aumento delle concentrazioni plasmatiche di GLP-1 e del volume gastrico durante la fase postprandiale precoce nel nostro studio supporta la possibilità che EVOO possa aver ridotto la risposta glicemica postprandiale attraverso un rallentato svuotamento gastrico supportato dalla secrezione di GLP-1.



Come altro potenziale meccanismo, abbiamo valutato l'effetto glucagonostatico del GLP-1 che è stato osservato dopo somministrazione esogena di GLP-1 in soggetti con diabete tipo 1 [126].

Nel nostro studio in linea con i risultati ottenuti da Kielgast et al [115], abbiamo osservato un lieve aumento della concentrazione postprandiale di glucagone dopo il pasto EVOO, rendendo improbabile che le aumentate concentrazioni di GLP-1 dopo il pasto EVOO fossero dovute alla soppressione del glucagone.

E' possibile che nei nostri soggetti l'aumento delle concentrazioni postprandiali di glucagone, al contrario, fosse una conseguenza dell'aumento delle concentrazioni postprandiali del GIP che si sono dimostrate significativamente più alte dopo entrambi i pasti ricchi in grassi rispetto al pasto povero in grassi, prevalendo sull'effetto glucagonostatico del GLP-1 come precedentemente osservato da Lund et al. [127] in soggetti con diabete tipo 2.

Dovrebbe inoltre essere considerato che l'aumento del glucagone postprandiale possa essere dovuto alla presenza dei grassi della dieta attraverso la stimolazione intestinale piuttosto che della produzione pancreatica [119].

Il pasto EVOO potrebbe aver esercitato i suoi effetti ipoglicemizzanti in fase postprandiale anche influenzando l'assorbimento dei carboidrati a livello intestinale. Il consistente aumento del GIP, GLP-1 e glucagone in risposta a pasti ricchi in grassi suggerisce che i grassi della dieta rappresentano un importante stimolo rispetto ai carboidrati nel regolare la risposta ormonale postprandiale.

Nell'intestino, l'assorbimento dei grassi compete con quello dei carboidrati e potrebbe prevalere su di essi [116].

Questo sarebbe vero in particolare per i mufa che sono preferenzialmente assorbiti rispetto agli altri tipi di grassi [128]. In linea con questa considerazione, abbiamo osservato una elevata risposta dei trigliceridi in fase postprandiale ed una ridotta soppressione degli acidi grassi liberi dopo il pasto EVOO.

In studi condotti su soggetti sani, si sono osservati aumentati livelli di trigliceridi e acidi grassi liberi dopo il consumo del pasto EVOO rispetto a quello Burro [129].

Allo stesso modo, in soggetti con diabete tipo 2, nonostante i suoi effetti benefici sui parametri a digiuno, il pasto EVOO ha determinato un maggiore aumento della risposta postprandiale dei trigliceridi che è stata principalmente correlata ad un aumento delle lipoproteine di origine intestinale e dunque ad un effetto diretto dei grassi alimentari [130,131].

Inoltre, abbiamo osservato dopo il pasto EVOO una più bassa soppressione degli acidi grassi liberi come risultato di un maggiore assorbimento intestinale rispetto alla lipolisi del tessuto adiposo, rappresentando pertanto un indice di aumentato assorbimento intestinale dei grassi più che un marker di ridotta sensibilità insulinica.

L'effetto competitivo dei grassi sull'assorbimento dei carboidrati potrebbe anche essere correlato alle interazioni fisiologiche esistenti tra i carboidrati e i grassi, attraverso la formazione di complessi amilosio-lipidi che limitano la disponibilità dei carboidrati per la digestione operata dall'amilasi intestinale e successivo assorbimento [132].

In conclusione, il nostro studio, esplorando i meccanismi che sottendono la ridotta risposta glicemica postprandiale determinata dall'aggiunta di EVOO ad un pasto ad alto indice glicemico, contribuisce a chiarire la risposta fisiologica degli ormoni gastrointestinali alla qualità dei macronutrienti della dieta in soggetti con diabete tipo 1.

I nostri risultati sono stati ottenuti attraverso la rigorosa metodologia di uno studio randomizzato e controllato applicato ad un contesto sperimentale che ha riprodotto le condizioni di vita reale dei pazienti come evidenziato dalla realistica composizione dei pasti sperimentali e dalla tempistica dedicata al consumo del pasto.

I risultati di questo studio dimostrano che EVOO migliora la risposta glicemica postprandiale in soggetti con diabete tipo 1 attraverso influenze sullo svuotamento gastrico, sulla secrezione delle incretine e sul metabolismo lipidico, indicando chiaramente che la regolazione della risposta glicemica postprandiale in questi soggetti coinvolge complesse interazioni tra la composizione in macronutrienti del pasto e la capacità di percezione a livello intestinale. Essi, inoltre, forniscono informazioni aggiuntive in merito alla possibile ottimizzazione della terapia insulinica e allo sviluppo di tecnologie sempre più sofisticate per la gestione dei soggetti con diabete mellito tipo 1.

## **Considerazioni conclusive**

Gli scopi della mia tesi di dottorato sono stati sia quelli di valutare l'intake di macro e micronutrienti in soggetti adulti con diabete mellito tipo 1 per poter verificare l'adesione alle raccomandazioni nutrizionali, sia quelli di valutare il possibile ruolo dei carboidrati e dei grassi per la determinazione del bolo pre-prandiale di insulina in soggetti in trattamento con microinfusore di insulina.

In particolare, i risultati della prima linea di ricerca (Valutazione dell'intake di macro e micronutrienti in soggetti adulti con diabete mellito tipo 1) hanno mostrato che sia gli uomini che le donne, raggiungono livelli soddisfacenti di adesione alle raccomandazioni nutrizionali per quanto riguarda la vitamina A, la vitamina B6, B12, la niacina e la vitamina C, mentre, la metà dei pazienti non raggiunge l'introito raccomandato per i folati e si mantiene molto al di sotto dell'assunzione raccomandata per la vitamina E. Nessun soggetto aderisce alle raccomandazioni per la vitamina D e per quanto riguarda i minerali, l'adesione è stata estremamente bassa per il potassio e selenio e intermedia per zinco, rame e magnesio. Per quanto riguarda il calcio, si è osservato un basso introito per gli uomini e intermedio nelle donne, mentre relativamente al ferro, il livello di adesione negli uomini è alto e basso nelle donne. Tali risultati sono da ricondurre allo scarso consumo di pesce, prodotti caseari, vegetali e frutta tra i partecipanti al nostro studio ed indicano che l'intervento nutrizionale nei pazienti con diabete tipo 1 deve tenere conto anche di questi aspetti.

La seconda linea di ricerca (Valutazione del ruolo della quantità e qualità dei carboidrati sulla risposta glicemica postprandiale) ci ha permesso di dimostrare per la prima volta che è possibile calcolare le dosi pre-prandiali di insulina sulla base del carico glicemico degli alimenti di un pasto, ovvero considerando sia la qualità che la quantità di carboidrati. Inoltre questo metodo è risultato fattibile e non più complicato del metodo basato sul conteggio dei carboidrati in soggetti con diabete tipo 1 in trattamento con microinfusore di insulina.

E' importante sottolineare che non è possibile utilizzare il carico glicemico per il calcolo della dose prandiale di insulina senza aver effettuato un percorso di addestramento al suo utilizzo. A tal proposito, abbiamo strutturato un percorso teorico-esperienziale effettuato nel nostro centro da un team di nutrizionisti e medici diabetologi, diretto a fornire ai partecipanti maggiore consapevolezza delle proprie scelte alimentari e la capacità di utilizzare il carico glicemico degli alimenti per determinare il bolo insulinico prandiale.

Infine i risultati del progetto FACILE (terza linea di ricerca sul ruolo della diversa qualità di grassi sulla risposta glicemica postprandiale e studio dei possibili meccanismi), suggeriscono che la qualità dei carboidrati in un pasto misto influenza l'ampiezza e l'estensione della risposta glicemica postprandiale. Inoltre, l'olio extra vergine di oliva aggiunto ad un pasto ad alto indice glicemico è in grado di determinare una risposta glicemica postprandiale in fase precoce significativamente più bassa rispetto al pasto povero in grassi o con burro. Il meccanismo attraverso il quale l'olio extra vergine di oliva è in grado di attenuare l'iperglicemia postprandiale potrebbe consistere nel modificare la velocità di svuotamento gastrico e la secrezione del GLP-1 e nel ridurre allo stesso modo l'assorbimento del glucosio attraverso la competizione tra substrati carboidrati e lipidi. Sulla base dei risultati ottenuti finora dai nostri studi possiamo ipotizzare che in futuro sarà necessario creare algoritmi per il calcolo della dose prandiale di insulina che tengano in considerazione anche le altre componenti del pasto offrendo inoltre la possibilità di modificare le modalità di erogazione del bolo prandiale proprio in relazione ad esse.

## Appendice

Alimento		Carico glicemico per 100 g di alimento crudo	Porzione abituale	
			(g)	Carico glicemico
<b>Latte e yogurt</b>				
Latte (intero o scremato)		1		
Yogurt intero alla frutta		5		
Yogurt magro	Bianco o alla frutta con dolcificanti	1		
	Alla frutta con zucchero	6		
<b>Prodotti per la colazione</b>				
Bastoncini di crusca		21		
Biscotti secchi (tipo Oro Saiwa)		46		
Fette biscottate (normali o integrali)		46		
Fiocchi di avena		40		
Fiocchi di frumento integrale		42		
Fiocchi di mais (tipo Cornflakes)		71		
Marmellata	Classica	30		
	Senza zuccheri aggiunti	16		
Muesli		41		
Pavesini		43		
Riso soffiato		75		
<b>Pane e prodotti da forno</b>				
Cracker	Normali	43		
	Integrali	39		
Fresella		44		
Gallette di riso		66		
Grissini		44		
Pane	Normale	50		
	Integrale	36		
Pane a fette confezionato	Normale	29		
	Integrale	22		
Pane tostato		26		
<b>Frutta</b>				
Albicocche		4		
Ananas		7		
Arance		4		
Banana		9		
Ciliegie		6		
Cocomero		3		
Fragole		2		
Kiwi		5		
Mandarini		8		
Mele		6		
Melone		5		
Pere		4		
Pesca		3		

continua

Alimento		Carico glicemico per 100 g di alimento crudo	Porzione abituale	
			(g)	Carico glicemico
<b>Frutta</b>				
Pompelmo		2		
Prugne		6		
Uva		8		
<b>Cereali e derivati, patate</b>				
Couscous		47		
Farro		42		
Gnocchi di patate		19		
Grano		47		
Mais in scatola		12		
Misto (farro, orzo e riso)		33		
Orzo		38		
Pasta di semola (secca)	Normale	37		
	Integrale	31		
Pasta all'uovo	Fresca	29		
	Secca	36		
Patate		15		
Pizza		42		
Polenta		48		
Riso	Normale	49		
	Parboiled	46		
	Integrale	43		
Tortellini freschi		22		
<b>Legumi secchi</b>				
Ceci		13		
Fagioli		19		
Lenticchie		16		
Piselli		11		
Soia		4		
<b>Legumi freschi o surgelati</b>				
Fave		4		
Piselli	Freschi	4		
	Surgelati	7		
<b>Minestre</b>				
(compilare in base al tipo e alle quantità degli alimenti utilizzati)				
Legumi				
Pasta				
Riso				
Totale				
Pasta				
Patate				
Riso				
Totale				
Legumi				
Pasta				

continua

Alimento	Carico glicemico per 100 g di alimento crudo	Porzione abituale	
		(g)	Carico glicemico
Minestre (compilare in base al tipo e alle quantità degli alimenti utilizzati)			
Patate			
Riso			
Totale			
Altri piatti			
Bastoncini di merluzzo	6		
Cannelloni ricotta e spinaci	3		
Gateau di patate	9		
Lasagna	Con carne	5	
	Vegetariana	3	
ALIMENTI DA CONSUMARE SOLO OCCASIONALMENTE PER L'ELEVATO CONTENUTO IN ZUCCHERI SEMPLICI E/O GRASSI SATURI			
Zucchero e dolci			
Biscotti frollini	39		
Biscotti tipo wafer	60		
Caramelle	65		
Cioccolato	Al latte	31	
	Fondente ≥ 70%	11	
Crema da spalmare cacao e nocciola (tipo Nutella)	26		
Croissant	25		
Crostata con marmellata	28		
Gelato alla crema	14		
Merendina farcita	30		
Pasticceria	32		
Sorbetto	22		
Torta tipo margherita	25		
Zucchero raffinato o di canna	68		
Frutta conservata			
Ananas in scatola	8		
Pesca in scatola	3		
Bevande zuccherate e alcoliche			
Aranciata, Sprite	7		
Birra	2		
Coca-cola	8		
Succo di frutta	Con zuccheri aggiunti	30	
	Senza zuccheri aggiunti	16	
Tè confezionato	8		
Patate fritte e salatini			
Patatine fritte	21		
Patatine in busta	33		
Salatini	42		

## **Bibliografia**

- [1] M. Parillo. Il giornale di AMD 2014;17:38-42.
- [2] M. Parillo. ADI 2009;1:53-59.
- [3] American Diabetes Association (2013) Standards of medical care in diabetes 2013. Diabetes Care 36(Suppl 1):S11–S66.
- [4] Associazione Medici Diabetologi (AMD) and Società Italiana di Diabetologia (SID), Standard italiani per la cura del diabete mellito 2013-2014, Infomedica, Torino, Italy, 2014.
- [5] Giacco R, Parillo M, Rivellese AA, Lasorella G, Giacco A, D’Episcopo L et al (2000) Long-term dietary treatment with increased amounts of fiber-rich low-glycemic index natural foods improves blood glucose control and reduces the number of hypoglycemic events in type 1 diabetic patients. Diabetes Care 23:1461–1466.
- [6] Toeller M, Klischan A, Heitkamp G, Schumacher W, Milne R, Buyken A, et al. Nutritional intake of 2868 IDDM patients from 30 centres in Europe. EURODIAB IDDM Complications Study Group. Diabetologia. 1996; 39:929-39.
- [7] Snell-Bergeon JK, Chartier-Logan C, Maahs DM, Ogden LG, Hokanson JE, Kinney GL, et al. Adults with type 1 diabetes eat a high fat, atherogenic diet which is associated with coronary artery calcium. Diabetologia. 2009;52:801-9.
- [8] Ahola AJ, Mikkilä V, Mäkimattila S, Forsblom C, Freese R, Groop PH; FinnDiane Study Group. Energy and nutrient intakes and adherence to dietary guidelines among Finnish adults with type 1 diabetes. Ann Med. 2012 Feb;44(1):73-81.
- [9] Bonnefont-Rousselot D. The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. Treat Endocrinol. 2004;3(1):41-52.
- [10] Randecker GA, Smiciklas-Wright H, McKenzie JM, Shannon BM, Mitchell DC, Becker DJ, Kieselhorst K. The dietary intake of children with IDDM. Diabetes Care (1996) Dec;19(12):1370-4.
- [11] Anderson EJ, Richardson M, Castle G, Cercone S, Delahanty L, Lyon R, Mueller D, Snetselaar: Nutrition interventions for intensive therapy in the Diabetes Control and Complications Trial. The DCCT Research Group. Journal of American Dietetic Association.93(7):768-72,1993.
- [12] Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. ADA. Definition and description of diabetes mellitus. Diabetes Care, 35(suppl.1) 2012.
- [13] Halfon P, Belkhadir J, Slama G: Correlation between amount of carbohydrate in mixed meals and insulin delivery by artificial pancreas in seven IDDM subjects. Diabetes Care.12(6),1989.

- [14] DAFNE Study Group. Training in flexible, intensive insulin management to enable dietary freedom in people with type 1 diabetes: dose adjustment for normal eating (DAFNE) randomised controlled trial. *British Medical Journal* 325:746-9,2002.
- [15] Mehta SN, Quinn N, Volkening LK, Laffel LM: Impact of carbohydrate counting on glycemic control in children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 32:1014–16, 2009.
- [16] Gillespie SJ, Kulkarni KD, Daly AE: Using carbohydrate counting in diabetes clinical practice. *Journal of American Dietetic Association* 98(8):897– 905,1998.
- [17] Chiesa G, Piscopo MA, Rigamonti A, et al. Insulin therapy and carbohydrate counting. *Acta Biomed* 2005;76(Suppl. 3):44–48.
- [18] Gunderson H. Diabetes: Meal-planning strategies in diabetes. American Dietetic Association. *Guide to diabetes: medical nutrition therapy and education*. 201–217,2005.
- [19] Trento M, Borgo E, Kucich C, Passera P, Trinetta A, Charrier L, Cavallo F, Porta M: Quality of life, coping ability, and metabolic control in patients with type 1 diabetes managed by group care and a carbohydrate counting program. *Diabetes Care*. 32(11),2009.
- [20] Laurenzi A, Bolla AM, Panigoni G, Doria V, Uccellatore A, Peretti E, et al. Effects of carbohydrate counting on glucose control and quality of life over 24 weeks in adult patients with type 1 diabetes on continuous subcutaneous insulin infusion: a randomized, prospective clinical trial (GIOCAR). *Diabetes Care* 34:823-7,2011.
- [21] Kaye Foster-Powell, Susanna HA Holt, and Janette C Brand-Miller. International table of glycemic index and glycemic load values. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2002; 76 (1):5-56
- [22] Brand-Miller JC, Petocz P, Colagiuri S: Meta-analysis of low-glycemic index diets in the management of diabetes: response to Franz. *Diabetes Care* 26 (12):3363-4, 2003.
- [23] European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. *Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe*. *Lancet* 354(9179):617-21, 1999.
- [24] Ludwig D. Dietary glycemic index and obesity. *Journal of Nutrition* 103(3):E26,2000.
- [25] Ludwig D, Majzoub J, Al-Zahrani A, Dallal G, Blanco I, Roberts S. High glycemic index foods, overeating, and obesity. *Pediatrics* 103(3):E26,1999.
- [26] Franceschi S. Dal ML, Augustin L, et al. Dietary glicemic load and colorectal cancer risk. *Annals of Oncology* 12(2):173-8,2001.



- [27] Augustin L. Dietary Glycemic index and glycemic load in breast cancer risk: a case-control study. *Annals of Oncology* 12(11):1533-8, 2001.
- [28] Buyken A, Toeller M, Heitkamp G, et al. Glycemic index in the diet of European outpatients with type 1 diabetes: relations to glycated hemoglobin and serum lipids. *American Journal of Clinical Nutrition* 73(3):574-81,2001.
- [29] Toeller M, Buyken AE, Heitkamp G, et al. Nutrient intakes as predictors of body weight in European people with type 1 diabetes. *International Journal of Obesity* 2001; 25(12):1815-22.
- [30] Tonja R. Nansel, Lauren Gellar, Ches Adrienne McGill. Effect of Varying Glycemic Index Meals on Blood Glucose Control Assessed With Continuous Glucose Monitoring in Youth With Type 1 Diabetes on Basal-Bolus Insulin Regimens. *Diabetes Care* 31(4):695–697,2008.
- [31] Alisha J. Rovner, Tonja R. Nansel, and Lauren Gellar. The effect of a low glycemic diet versus a standard diet on blood glucose levels and macronutrient intake in children with type 1 diabetes. *Journal of American Dietetic Association*. 109(2):303-307,2009.
- [32] Kawamura T .The importance of carbohydrate counting in the treatment of children with diabetes. *Pediatric Diabetes* 2007; 8 (Suppl. 6): 57–62.
- [33] Hui LL, Nelson EA, Choi KC, Wong GW, Sung R: Twelve-hour glycemic profiles with meals of high, medium, or low glycemic load. *Diabetes Care* 28(12),2005.
- [34] Capani F, Casalini G, Consoli A, D'Emilio A, La Nave G, Loragno M, Vitacolonna E, Zappone G. Insulin requirement of simple and complex carbohydrate foods in type 1 (insulin-dependent) CSII-treated diabetic subjects, obtained by biostator. Correlation with glycaemic index. *Acta Diabetologica Latina*. 1991 Jan-Mar;28(1):47-53.
- [35] Lafrance L, Rabasa-Lhoret R, Poisson D, Ducros F, Chiasson JL. Effects of different glycaemic index foods and dietary fibre intake on glycaemic control in type 1 diabetic patients on intensive insulin therapy. *Diabetic Medicine*. 1998 Nov; 15(11):972-78.
- [36] Chantelau E, Spraul M, Kunze K, Sonnenberg GE, Berger M. Effects of the glycaemic index of dietary carbohydrates on prandial glycaemia and insulin therapy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2(1):35-41,1986.
- [37] R. Giacco, F. Brighenti, M. Parillo, M. Capuano, A. V. Ciardullo, G. Riccardi, A. Rivieccio: Characteristics of some wheat-based foods of the Italian diet in relation to their influence on postprandial glucose metabolism in patients with type 2 diabetes. *British Journal of Nutrition* 85,33-40 (2001).

[38] Pi-Sunyer FX. Glycemic index and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 76 (suppl.):290S-8S,2002.

[39] Sheard NF, Clark NG, Brand-Miller JC, Franz MJ, Pi-Sunyer FX, Mayer-Davis E, Kulkarni K, Geil P. Dietary carbohydrate (amount and type) in the prevention and management of diabetes: a statement by the american diabetes association. *Diabetes Care*. 27(9):2266-71,2004.

[40] Liu S, Willett WC, Stampfer MJ, et al. A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71:1455–61,2000.

[41] Jiansong Bao, Fiona Atkinson, Peter Petocz, Walter C Willett, and Jennie C Brand-Miller: Prediction of postprandial glycemia and insulinemia in lean, young, healthy adults: glycemic load compared with carbohydrate content alone<sup>1</sup>. *The American Journal of Clinical Nutrition* 93:984–96,2011.

[42] Halton TL, Willett WC, Liu S, et al. Low-carbohydrate-diet score and the risk of coronary heart disease in women. *New England Journal of Medicine* 355:19,2006.

[43] McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PWF, Jacques PF. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham offspring cohort. *Diabetes Care* 27:538–46,2004.

[44] Brand JC, Colagiuri S, Crossman S, Allen A, Roberts DC, Truswell AS. Low-glycemic index foods improve long-term glycemic control in NIDDM. *Diabetes Care* 14(20):95–101,1991.

[45] Willett W, Manson J, Liu S. Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition* 76(suppl):274S– 80S,2002.

[46] McKeown NM, Meigs JB, Liu S, et al. Dietary carbohydrates and cardiovascular disease risk factors in the Framingham offspring cohort. *Journal of the American College of Nutrition* 28(2):150–8,2009.

[47] Halton TL, Willett WC, Liu S, Manson JE, Stampfer MJ, Hu FB. Potato and french fry consumption and risk of type 2 diabetes in women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 83:284–90,2006.

[48] Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, et al. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *Journal of the American Medical Association* 292(8):927–34,2004.

- [49] Salmeron J, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Wing AL, Willett WC. Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *Journal of the American Medical Association* 277:472– 7,1997.
- [50] Michaud DS, Liu S, Giovannucci E, Willett WC, Colditz GA, Fuchs CS. Dietary sugar, glycemic load, and pancreatic cancer risk in a prospective study. *Journal of the National Cancer Institute* 94(17):1293–1300,2002.
- [51] Higginbotham S, Zhang Z-F, Lee IM, et al. Dietary glycemic load and risk of colorectal cancer in the Women's Health Study. *Journal of the National Cancer Institute* 96(3):229–33,2004.
- [52] Augustin LS, Galeone C, Dal Maso L, et al. Glycemic index, glycemic load and risk of prostate cancer. *International Journal of Cancer* 112:446–50,2004.
- [53] Jenkins D.J., Wolever T.M., Wong G.S., Kenshole A., Josse R.G., Thompson L.U. & Lam K.Y. Glycaemic responses to foods: possible differences between insulin-dependent and noninsulin dependent diabetics. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1984.
- [54] Collier G, O'Dea K. The effect of coingestion of fat on the glucose, insulin, and gastric inhibitory polypeptide responses to carbohydrate and protein. *Am J Clin Nutr*, 1983.
- [55] Megan Paterson, Kirstine J. Bell, Susan M. O'Connell, Carmel E. Smart, Amir Shafat, and Bruce King. The Role of Dietary Protein and Fat in Glycaemic Control in Type 1 Diabetes: Implications for Intensive Diabetes Management. *Current diabetes reports*, 2015.
- [56] Bell KJ, Smart CE, Steil GM, Brand-Miller JC, King B, Wolpert HA. Impact of fat, protein, and glycemic index on postprandial glucose control in type 1 diabetes: implications for intensive diabetes management in the continuous glucose monitoring era. *Diabetes Care*, 2015.
- [57] Lodefalk M, Aman J, Bang P. Effects of fat supplementation on glycaemic response and gastric emptying in adolescents with Type 1 diabetes. *Diabet Med.*, 2008.
- [58] MacDonald K, Lowe JM, Barker D, Mensch M, Attia J. Effect of popular takeaway foods on blood glucose levels in type 1 diabetes mellitus patients on intensive insulin therapy. *Int J Clin Pract.*, 2009.
- [59] Smart CE, Evans M, O'Connell SM, McElduff P, Lopez PE, Jones TW, Davis EA, King BR. Both dietary protein and fat increase postprandial glucose excursions in children with type 1 diabetes, and the effect is additive. *Diabetes Care*, 2013.
- [60] Wolpert HA, Atakov-Castillo A, Smith SA, Steil GM. Dietary fat acutely increases glucose concentrations and insulin requirements in patients with type 1 diabetes: implications

for carbohydrate-based bolus dose calculation and intensive diabetes management. *Diabetes Care*, 2013.

[61] García-López JM, González-Rodríguez M, Pazos-Couselo M, Gude F, Prieto-Tenreiro A, Casanueva F. Should the amounts of fat and protein be taken into consideration to calculate the lunch prandial insulin bolus? Results from a randomized crossover trial. *Diabetes Technol Ther.*, 2013.

[62] Gatti E , Noè D , Pazzucconi F , Gianfranceschi G , Porrini M , Testolin G , Sirtori. Differential effect of unsaturated oils and butter on blood glucose and insulin response to carbohydrate in normal volunteers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1992.

[63] Joannic JL, Auboiron S, Raison J, Basdevant A, Bornet F, Guy-Grand B. How the degree of unsaturation of dietary fatty acids influences the glucose and insulin responses to different carbohydrates in mixed meals. *Am J Clin Nutr.*, 1997.

[64] Radulescu A, Gannon MC, Nuttall FQ. The effect on glucagon, glucagon-like peptide-1, total and acyl-ghrelin of dietary fats ingested with and without potato. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2010.

[65] R. L. Bailey, K. P. West Jr., and R. E. Black, “The epidemiology of global micronutrient deficiencies,” *Annals of Nutrition & Metabolism*, vol. 66, Supplement 2, pp. 22–33, 2015.

[66] S. Rautiainen, J. E. Manson, A. H. Lichtenstein, and H. D. Sesso, “Dietary supplements and disease prevention – a global overview,” *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 12, no. 7, pp. 407–420, 2016.

[67] C. C. Lin and Y. L. Huang, “Chromium, zinc and magnesium status in type 1 diabetes,” *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, vol. 18, no. 6, pp. 588–592, 2015.

[68] S. Sette, C. Le Donne, R. Piccinelli et al., “The third Italian National Food Consumption Survey, INRAN-SCAI 2005-06 e Part 1: nutrient intakes in Italy,” *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, vol. 21, no. 12, pp. 922–932, 2011.

[69] M. Parillo, G. Annuzzi, A. A. Rivellese et al., “Effects of meals with different glycaemic index on postprandial blood glucose response in patients with type 1 diabetes treated with continuous subcutaneous insulin infusion,” *Diabetic Medicine*, vol. 28, no. 2, pp. 227–229, 2011.

[70] L. Bozzetto, M. Giorgini, A. Alderisio et al., “Glycaemic load versus carbohydrate counting for insulin bolus calculation in patients with type 1 diabetes on insulin pump,” *Acta Diabetologica*, vol. 52, no. 5, pp. 865–871, 2015.

[71] L. Bozzetto, A. Alderisio, M. Giorgini et al., “Extra-virgin olive oil reduces glycemic response to a high-glycemic index meal in patients with type 1 diabetes: a randomized controlled trial,” *Diabetes Care*, vol. 39, no. 4, pp. 518–524, 2016.

[72] E. Carnovale and L. Marletta, Eds., *Tabelle di Composizione degli Alimenti - Aggiornamento 2000 INRAN*, EDRA SpA, Milan, Italy, 2000.

- [73] J. I. Mann, I. De Leeuw, K. Hermansen et al., “Evidence-based nutritional approaches to the treatment and prevention of diabetes mellitus,” *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, vol. 14, no. 6, pp. 373–394, 2004.
- [74] Società Italiana di Nutrizione Umana, *Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed Energia per la popolazione italiana (LARN)*, IV Revisione - Società Italiana di Comunicazione Scientifica e Sanitaria (Sics) Publisher, Milan, Italy, 2014.
- [75] Anthropometric Standardization Reference Manual. Lohman TM, Roche AF, Martorell R, eds. Human Kinetics Pub, 1988.
- [76] A. A. Rivellese, M. Boemi, F. Cavalot et al., “Dietary habits in type II diabetes mellitus: how is adherence to dietary recommendations?,” *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 62, no. 5, pp. 660–664, 2008.
- [77] M. Vitale, M. Masulli, S. Cocozza et al., “Sex differences in food choices, adherence to dietary recommendations and plasma lipid profile in type 2 diabetes – the TOSCA.IT study,” *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*, vol. 26, no. 10, pp. 879–885, 2016.
- [78] P. Pietinen, M. Paturi, H. Reinivuo, H. Tapanainen, and M. L. Valsta, “FINDIET 2007 Survey: energy and nutrient intakes,” *Public Health Nutrition*, vol. 13, no. 6A, pp. 920–924, 2010.
- [79] US Department of Agriculture US Department of Health and Human Services, *Dietary Guidelines for Americans*, 2010, Government Printing Office, Washington, DC, USA, 7th edition, 2010.
- [80] E. E. Quann, V. L. Fulgoni, and N. Auestad, “Consuming the daily recommended amounts of dairy products would reduce the prevalence of inadequate micronutrient intakes in the United States: diet modeling study based on NHANES2007-2010,” *Nutrition Journal*, vol. 14, no. 1, p. 90, 2015.
- [81] Bell KJ, Barclay AW, Petocz P, Colagiuri S, Brand-Miller JC (2014) Efficacy of carbohydrate counting in type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2:133–140.
- [82] Schmidt S, Schelde B, Nørgaard K (2014) Effects of advanced carbohydrate counting in patients with type 1 diabetes: a systematic review. *Diabet Med* 31:886–896.
- [83] Slama G, Klein JC, Delage A, Ardila E, Lemaignan H, Papoz L et al (1981) Correlation between the nature and amount of carbohydrate in meal intake and insulin delivery by the artificial pancreas in 24 insulin-dependent diabetics. *Diabetes* 30:101–105.
- [84] Weyman-Daum M, Fort P, Recker B, Lanes R, Lifshitz F (1987) Glycemic response in children with insulin-dependent diabetes mellitus after high- or low-glycemic-index breakfast. *Am J Clin Nutr* 46:798–803.
- [85] Elleri D, Allen JM, Harris J, Kumareswaran K, Nodale M, Leelarathna L et al (2013) Absorption patterns of meals containing complex carbohydrates in type 1 diabetes. *Diabetologia* 56:1108–1117.

- [86] Fabricatore AN, Ebbeling CB, Wadden TA, Ludwig DS (2011) Continuous glucose monitoring to assess the ecologic validity of dietary glycemic index and glycemic load. *Am J Clin Nutr* 94:1519–1524.
- [87] O’Connell MA, Gilbertson HR, Donath SM, Cameron FJ (2008) Optimizing postprandial glycemia in pediatric patients with type 1 diabetes using insulin pump therapy: impact of glycemic index and prandial bolus type. *Diabetes Care* 31:1491–1495.
- [88] Ryan RL, King BR, Anderson DG, Attia JR, Collins CE, Smart CE (2008) Influence of and optimal insulin therapy for a lowglycemic index meal in children with type 1 diabetes receiving intensive insulin therapy. *Diabetes Care* 31:1485–1490.
- [89] Mann JI, De LI, Hermansen K, Karamanos B, Karlstrom B, Katsilambros N, Riccardi et al (2004) Evidence-based nutritional approaches to the treatment and prevention of diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 14:373–394.
- [90] Pastors JG, Waslaski J, Gunderson H. Diabetes meal-planning strategies. In: Ross TA, Boucher JL, O’Connell BS, eds. *Diabetes medical nutrition therapy and education*. Chicago, IL: American Dietetic Association 2005, pp. 201-17.
- [91] Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff DV. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1981; 34 (3):362-6.
- [92] Scazzina F, Dall’Asta M, Casiraghi MC, Sieri S, Del Rio D, Pellegrini N, Brighenti F. Glycemic index and glycemic load of commercial italian foods. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2016;26:419-29.
- [93] Rivellese AA, Boemi M, Cavalot F, Costagliola L, De Feo P, Patti L et al.; Mind.it Study Group. Dietary habits in type II diabetes mellitus: how is adherence to dietary recommendations? *Eur J Clin Nutr* 2008;62:660-4.
- [94] Peters AL, Davidson MB. Protein and fat effects on glucose responses and insulin requirements in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 1993;58: 555–560.
- [95] Borie-Swinburne C, Sola-Gazagnes A, Gonfroy-Leymarie C, Boillot J, Boitard C, Larger E. Effect of dietary protein on post-prandial glucose in patients with type 1 diabetes. *J Hum Nutr Diet* 2013;26:606–611.
- [96] Pankowska E, Błazik M, Groele L. Does the fat-protein meal increase postprandial glucose level in type 1 diabetes patients on insulin pump: the conclusion of a randomized study. *Diabetes Technol Ther* 2012;14:16–22].
- [97] Kordonouri O, Hartmann R, Remus K, Bläsing S, Sadeghian E, Danne T. Benefit of supplementary fat plus protein counting as compared with conventional carbohydrate counting for insulin bolus calculation in children with pump therapy. *Pediatr Diabetes* 2012;13:540–544.

- [98] Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, et al. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1135–1143.
- [99] Rasmussen O, Lauszus FF, Christiansen C, Thomsen C, Hermansen K. Differential effects of saturated and monounsaturated fat on blood glucose and insulin responses in subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 1996;63:249–253.
- [100] Robertson MD, Jackson KG, Fielding BA, Morgan LM, Williams CM, Frayn KN. Acute ingestion of a meal rich in n-3 polyunsaturated fatty acids results in rapid gastric emptying in humans. *Am J Clin Nutr* 2002;76:232–238.
- [101] Thomsen C, Storm H, Holst JJ, Hermansen K. Differential effects of saturated and monounsaturated fats on postprandial lipemia and glucagon-like peptide 1 responses in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 2003;77: 605–611.
- [102] Mizrahi S. Mechanisms of objectionable textural changes by microwave reheating of foods: a review. *J Food Sci* 2012;77:R57–R62.
- [103] Perrotti N, Santoro D, Genovese S, Giacco A, Rivellese A, Riccardi G. Effect of digestible carbohydrates on glucose control in insulindependent diabetic patients. *Diabetes Care* 1984;7:354–359.
- [104] Gulliford MC, Bicknell EJ, Scarpello JH. Differential effect of protein and fat ingestion on blood glucose responses to high- and lowglycemic- index carbohydrates in noninsulindependent diabetic subjects. *Am J Clin Nutr* 1989;50:773–777.
- [105] Ryan RL, King BR, Anderson DG, Attia JR, Collins CE, Smart CE. Influence of and optimal insulin therapy for a low-glycemic indexmeal in children with type 1 diabetes receiving intensive insulin therapy. *Diabetes Care* 2008;31: 1485–1490.
- [106] De Natale C, Annuzzi G, Bozzetto L, et al. Effects of a plant-based high-carbohydrate/high-fiber diet versus high-monounsaturated fat/low-carbohydrate diet on postprandial lipids in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2009;32:2168–2173.
- [107] Jenkins DJ, Kendall CW, Vuksan V, et al. Effect of lowering the glycemic load with canola oil on glycemic control and cardiovascular risk factors: a randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2014;37:1806–1814.
- [108] Joannic JL, Auboiron S, Raison J, Basdevant A, Bornet F, Guy-Grand B. How the degree of unsaturation of dietary fatty acids influences the glucose and insulin responses to different carbohydrates in mixed meals. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1427–1433.
- [109] Marathe CS, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Relationships between gastric emptying, postprandial glycemia, and incretin hormones. *Diabetes Care* 2013; 36:1396-405.
- [110] Cunningham KM, Read NW. The effect of incorporating fat into different components of a meal on gastric emptying and postprandial blood glucose and insulin responses. *Br J Nutr* 1989; 61:285-90.
- [111] Gentilcore D, Chaikomin R, Jones KL, et al. Effects of fat on gastric emptying of and the glycemic, insulin, and incretin responses to a carbohydrate meal in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:2062-7.

- [112] Mansour A, Hosseini S, Larijani B, Pajouhi M ,Mohajeri-Tehrani MR. Nutrients related to GLP1 secretory responses. *Nutrition* 2013; 29:813-20.
- [113] Itoh K, Moriguchi R, Yamada Y, et al. High saturated fatty acid intake induces insulin secretion by elevating gastric inhibitory polypeptide levels in healthy individuals. *Nutr Res* 2014; 34:653-60.
- [114] Lardinois CK, Starich GH, Mazzaferri EL. The postprandial response of gastric inhibitory polypeptide to various dietary fats in man. *J Am Coll Nutr* 1988; 7:241-7.
- [115] Kielgast U, Holst JJ, Madsbad S. Antidiabetic actions of endogenous and exogenous GLP-1 in type 1 diabetic patients with and without residual beta-cell function. *Diabetes* 2011; 60:1599-607.
- [116] Emerson SR, Haub MD, Teeman CS, Kurti SP ,Rosenkranz SK. Summation of blood glucose and TAG to characterise the 'metabolic load index'. *Br J Nutr* 2016; 116:1553-1563.
- [117] Bolondi L, Bortolotti M, Santi V, et al. Measurement of gastric emptying time by real-time ultrasonography. *Gastroenterology* 1985; 89:752-9.
- [118] Marzio L, Giacobbe A, Conoscitore P, et al. Evaluation of the use of ultrasonography in the study of liquid gastric emptying. *Am J Gastroenterol* 1989; 84:496-500.
- [119] Hare KJ, Vilsboll T, Holst JJ ,Knop FK. Inappropriate glucagon response after oral compared with isoglycemic intravenous glucose administration in patients with type 1 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 298:E832-7.
- [120] Phillips LK, Deane AM, Jones KL, Rayner CK ,Horowitz M. Gastric emptying and glycaemia in health and diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2015; 11:112-28.
- [121] Vilsboll T, Krarup T, Sonne J, et al. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2706-13.
- [122] Bozzetto L, Annuzzi G, Pacini G, et al. Polyphenol-rich diets improve glucose metabolism in people at high cardiometabolic risk: a controlled randomised intervention trial. *Diabetologia* 2015; 58:1551-60.
- [123] Beysen C, Karpe F, Fielding BA, et al. Interaction between specific fatty acids, GLP-1 and insulin secretion in humans. *Diabetologia* 2002; 45:1533-41.
- [124] Paniagua JA, De La Sacristana AG, Sanchez E, et al. A MUFA-rich diet improves postprandial glucose, lipid and GLP-1 responses in insulin-resistant subjects. *J Am Coll Nutr* 2007; 26:434-44.
- [125] Dupre J. Glycaemic effects of incretins in Type 1 diabetes mellitus: a concise review, with emphasis on studies in humans. *Regul Pept* 2005; 128:149-57.
- [126] Creutzfeldt WO, Kleine N, Willms B, et al. Glucagonostatic actions and reduction of fasting hyperglycemia by exogenous glucagon-like peptide I(7-36) amide in type I diabetic patients. *Diabetes Care* 1996; 19:580-6.



- [127] Lund A, Vilsboll T, Bagger JJ, Holst JJ, Knop FK. The separate and combined impact of the intestinal hormones, GIP, GLP-1, and GLP-2, on glucagon secretion in type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 300:E1038-46.
- [128] Jackson KG, Robertson MD, Fielding BA, Frayn KN, Williams CM. Olive oil increases the number of triacylglycerol-rich chylomicron particles compared with other oils: an effect retained when a second standard meal is fed. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:942-9.
- [129] Mekki N, Charbonnier M, Borel P, et al. Butter differs from olive oil and sunflower oil in its effects on postprandial lipemia and triacylglycerol-rich lipoproteins after single mixed meals in healthy young men. *J Nutr* 2002; 132:3642-9.
- [130] De Natale C, Annuzzi G, Bozzetto L, et al. Effects of a plant-based high-carbohydrate/high-fiber diet versus high-monounsaturated fat/low-carbohydrate diet on postprandial lipids in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2009; 32:2168-73.
- [131] Bozzetto L, Annuzzi G, Costabile G, et al. A CHO/fibre diet reduces and a MUFA diet increases postprandial lipaemia in type 2 diabetes: no supplementary effects of low-volume physical training. *Acta Diabetol* 2014; 51:385-93.
- [132] Lau E, Zhou W, Henry CJ. Effect of fat type in baked bread on amylose-lipid complex formation and glycaemic response. *Br J Nutr* 2016; 115:2122-9.

## 9. Pubblicazioni

### Pubblicazioni di studi sperimentali oggetto della tesi di dottorato

1. Bozzetto L, **Giorgini M**, Alderisio A, Costagliola L, Giacco A, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G. Glycaemic load versus carbohydrate counting for insulin bolus calculation in patients with type 1 diabetes on insulin pump. Acta Diabetol. 2015;52(5):865-71.
2. Bozzetto L, Alderisio A, **Giorgini M**, Barone F, Giacco A, Riccardi G, Rivellese AA, Annuzzi G. Extra-virgin olive oil reduces glycemic response to a high-glycemic index meal in type 1 diabetes patients: a randomized controlled trial. Diabetes Care 2016 Apr;39(4):518-24.
3. **M. Giorgini**, O. Ciano, A. Giacco, A. Alderisio, L. Bozzetto, A.A. Rivellese, G. Riccardi, G. Annuzzi. Un percorso formativo per l'utilizzo del carico glicemico per la determinazione del bolo prandiale di insulina nei pazienti con diabete tipo 1. G It Diabetol Metab 2017;37:43-49.
4. **Marisa Giorgini**, Marilena Vitale, Lutgarda Bozzetto, Ornella Ciano, Angela Giacco, Anna Riveccio, Ilaria Calabrese, Gabriele Riccardi, Angela A. Rivellese, and Giovanni Annuzzi. Micronutrient Intake in a Cohort of Italian Adults with Type 1 Diabetes: Adherence to Dietary Recommendations. Hindawi Journal of Diabetes Research Volume 2017, pp.1-5.
5. Bozzetto L, Alderisio A, Clemente G, **Giorgini M**, Barone F, Griffo E, Costabile G, Vetrani C, Cipriano P, Giacco A, Riccardi G, A.A. Rivellese, G. Annuzzi. Gastrointestinal mechanisms for extra-virgin olive oil reducing effect on postprandial glycemia in type 1 diabetes (lavoro sottomesso a Metabolism Clinical and Experimental).

### Pubblicazioni attinenti:

6. **M. Giorgini**, L. Bozzetto, A. Alderisio, L. Costagliola, A. Giacco, G. Riccardi, A. Rivellese, G. Annuzzi. Utilizzo del carico glicemico per la determinazione del bolo preprandiale di insulina in pazienti con diabete mellito tipo 1. ADI magazine (N° 4 – Dicembre 2016 pp. 247 - 250).

### Altre pubblicazioni:

7. Clemente G, **Giorgini M**, Mancini M, Gallo M. Diabetologists and Oncologists attitudes towards treating diabetes in the oncologic patient: insights from an exploratory survey (lavoro sottomesso a Diabetes Research and Clinical Practice).

8. **Giorgini M**, Gallo M, Clemente G. Modalities for assessing the nutritional status in patients with diabetes and cancer (lavoro sottomesso a Critical Reviews in Food Science and Nutrition).

### **Capitoli di libri**

9. Angela Taurone, Anna Maria Riveccio, **Marisa Giorgini**. L'approccio dietetico in gastroenterologia. Manuale di Nutrizione Applicata IV edizione 2016 - Edizioni Idelson-Gnocchi. Capitolo 12, pp. 223-250.
10. Angela Giacco, **Marisa Giorgini**. Alimentazione ed etnie diverse. Manuale di Nutrizione Applicata IV edizione 2016 - Edizioni Idelson-Gnocchi. Capitolo 21, pp. 343-347.
11. Gennaro Saldamacchia, Giuseppe della Pepa, **Marisa Giorgini**. Pattern nutrizionali nelle diverse etnie. Nutrizione Umana edizione 2017 – Edizioni Idelson Gnocchi. Capitolo 46, pp.711-720.